H29

Archives C. N. R. S. N° A. O. 5265

THESE

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

pour obtenir

le GRADE de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Georges de LINGUA de SAINT BLANQUAT

MÉCANISME DE L'HYPERSÉCRÉTION GASTRIQUE PROVOQUÉE PAR L'ÉTHANOL CHEZ LE RAT

Soutenue le 12 mars 1971, devant la Commission d'examen

MM. R. DERACHE *Président*

S. BONFILS
J.-F. CIER
P. RAYNAUD
} *Examinateurs*

Archives C. N. R. S. N° A. O. 5265

THESE

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

pour obtenir

le GRADE de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Georges de LINGUA de SAINT BLANQUAT

MÉCANISME DE L'HYPERSÉCRÉTION GASTRIQUE PROVOQUÉE PAR L'ÉTHANOL CHEZ LE RAT

Soutenue le 12 mars 1971, devant la Commission d'examen

MM. R. DERACHE *Président*

S. BONFILS
J.-F. CIER
P. RAYNAUD
Examinateurs

UNIV.
LEIDEN

UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE

DIRECTION DE L'UNIVERSITE

M. LARENG ..... Président
M. MATHIS ..... 1er Vice-Président
M. MARTIN ..... 2ème Vice-Président
M. MOUNIQ ..... 3ème Vice-Président

HONORARIAT

M. BLAIZOT ..... Doyen honoraire
M. CAPDECOMME ..... Doyen honoraire, Recteur honoraire
M. DELTHEIL ..... Doyen honoraire, Recteur honoraire, Professeur honoraire
M. DUPOUY ..... Membre de l'Institut, Doyen honoraire, Directeur Général du C.N.R.S., Professeur honoraire
M. DURAND ..... Doyen honoraire
M. FOUCHE ..... Professeur honoraire
M. GAUSSENS..... Professeur honoraire, Correspondant
M. JACQUES ..... Professeur honoraire de l'Institut.
M. MIGNONAC ..... Professeur honoraire
M. MORQUER ..... Professeur honoraire, Correspondant
M. SECONDAT ..... Professeur honoraire de l'Institut.
M. TEISSIE-SOLIER .... Professeur honoraire
M. VANDEL ..... Professeur honoraire,Mbre de l'Institut

PROFESSEURS

M. ESCANDE ..... Mécanique des Fluides, Mbre de l'Institut
M. CASTERAS ..... Géologie, Correspondant de l'Institut
M. BEDOS ..... Chimie
M. CAPDECOMME ..... Minéralogie
M. DUPIN ..... Radioélectricité
M. NOUVEL ..... Biologie Générale
M. GALLAIS ..... Chimie, Correspondant de l'Institut
M. DURAND ..... Physique
M. FERT ..... Physique
M. DEIHL ..... Agronomie
M. LESBRE ..... Chimie Organique
M. BRUNEL ..... Physiologie Végétale
M. HURON ..... Mathématiques Appliquées
M. MARGULIS ..... Pédologie
M. TRICHE ..... Chimie Analytique et Spectrographie
M. LEDOUX ..... Zoologie Appliquée
M. RIVALS ..... Agriculture
M. PERRIER ..... Physique
M. MATHIS ..... Chimie
M. ORLIAC ..... Géochimie et Minéralogie
M. LAFOURCADE ..... Physique
M. ANGELIER ..... Zoologie
Melle DE FERRE ..... Botanique
M. FARRAN ..... Minéralogie et Géotechnique
M. LAUDET ..... Physique Théorique et Calcul Numérique
M. SERFATY ..... Biologie Animale
M. NOUGARO ..... Hydraulique Générale et Appliquée
M. LAGASSE ..... Electrotechnique
M. GARDY ..... Génie Chimique
M. BLANC ..... Physique Nucléaire
M. BIREBENT ..... Electronique Appliquée
M. VOIGT ..... Chimie Minérale
M. LEREDDE ..... Botanique
M. LELUBRE ..... Géologie
M. TROCHAIN ..... Botanique
M. MASDUPUY ..... Chimie
M. LALAGUE ..... Mathématiques Générales
M. DESSENS ..... Physique du globe, Correspondant
M. BOUIGUE ..... Astronomie de l'Institut
M. COUCHET ..... Physique
M. LEJEUNE ..... Chimie
M. LASCOMBES ..... Botanique
M. ASSELINEAU ..... Chimie Biologique
M. MAURET ..... Chimie systématique
M. AGID ..... Physiologie
M. MONTANT ..... Cryptogamie
M. GAUTIER ..... Physique
M. CRUMEYROLLE ..... Mathématiques
M. GOURINARD ..... Géologie
M. PULOU ..... Minéralogie
M. CAMBOU ..... Physique Spatiale
M. MIQUEL ..... Chimie
M. LACOSTE ..... Electrotechnique
M. THIBAULT ..... Mécanique Rationnelle et Appliquée
M. MONTEL ..... Chimie Physique et Electrochimie
M. MASCART ..... Mathématiques
M. MEDIONI ..... Psychophysiologie
M. THIRRIOT ..... Hydrodynamique E.N.S.E.I.H.T.
M. BRENON ..... Géologie
M. LAFON ..... Calcul Différentiel et Intégral
M. RAYNAUD P ..... Physiologie Animale
M. ZALTA ..... Chimie Biologique
M. SEVELY ..... Electrotechnique
M. POMMIEZ ..... Mathématiques
M. REY ..... Biologie Végétale
M. COULOMB ..... Physique
M. TRINQUIER ..... Physique
M. MARONI ..... Chimie
M. BEETSCHEN ..... Biologie Générale
M. GRUAT ..... Mécanique des Fluides (hydraulique)
M. DERACHE ..... Physiologie Animale

PROFESSEURS ASSOCIES

M. MANSOUR .....
M. SAKUMA .....

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. HAMANT ..... Botanique
Mme BRUNEL ..... Physiologie Végétale
Melle BERDUCOU ..... Physiologie Végétale
M. PICCA ..... Physique
M. MERIC ..... Mathématiques Appliquées
Mme LECAL ..... Zoologie
M. BUGAREL ..... Génie Chimique
M. MIROUSE ..... Géologie
M. PILOD ..... Physique
M. LARROQUE ..... Physique
M. BARRANS ..... Chimie
Mme LAFON ..... Mathématiques
Melle LAPEYRE ..... Mathématiques (informatique)
M. DAT ..... Mécanique des Fluides
M. JEANNIN ..... Chimie Minérale
M. BERTRAND ..... Chimie
M. SATGE ..... Chimie Organique
M. DESQ ..... Mathématiques
M. MAHENC ..... Chimie
M. LATTES ..... Chimie
M. ROCARD ..... Electronique
M. DEGEILH ..... Physique
M. FALLOT ..... Biologie Végétale (Viticulture
M. POILBLANC ..... Chimie et Arboriculture)
M. TOUZE ..... Physiologie Végétale
M. FRASNAY ..... Mathématiques
M. CASSAGNAU ..... Zoologie
M. GUERIN ..... Mathématiques

MAITRES DE CONFERENCES

M. BLANCHARD ..... Mathématiques
M. HOFFMANN ..... Electronique
M. BITSCH ..... Zoologie
M. FONTAN ..... Physique Nucléaire
M. PESCIA ..... Physique
M. SICARD ..... Biologie Génétique
M. CAUSSINUS ..... Mathématiques Appliquées
M. DE LOTH ..... Chimie Physique
M. MARTY ..... Physique Industrielle
M. BAUDRAS ..... Chimie Biologique
M. DURAND Ph..... Physique
M. LEFEUVRE ..... Electronique E.N.S.E.I.H.T.
M. SOUQUET ..... Géologie
M. SAPORTE ..... Physique
M. ATTEIA ..... Mathématiques
M. ENJALBERT ..... Chimie
M. IMBERT ..... Psychophysiologie
M. SCHNEIDER ..... Biologie Cellulaire
M. ANGELINO ..... Génie Chimique
M. DABOSI ..... E.N.S.C.
M. ETTINGER ..... Mathématiques
M. CALVET ..... Mécanique des Fluides (E.N.S.E.I.H.T.)
M. PAGANI ..... Physique
M. CUPPENS ..... Mathématiques
M. MATHIEU ..... Chimie Analytique
M. TRANNOY ..... Physique (E.N.S.E.I.H.T.)
M. CASTAGNETTO ..... Mathématiques (E.N.S.E.I.H.T.)
M. GILOT ..... Génie Chimique (Institut du Génie Chimique)

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M. PUN .....
M. PARKS .....

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M. BEAUFILS ..... Informatiques
M. DARROZES ..... Mécanique
Melle BARBANCE ..... Mathématiques

PERSONNEL DE LA FACULTE AFFECTE A L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE TOULOUSE

PROFESSEURS

M. ROQUES ..... Chimie Industrielle

M. GRATELOUP ..... Génie Electrique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. CASSIGNOL ..... Génie Electrique

M. COLLETTE ..... Physique

M. MASO ..... Génie Civil

MAITRES DE CONFERENCES

M. FAGET ..... Physique

M. TRUCHASSON ..... Mécanique

M. SCHUTTLER ..... Physique

M. MIRA ..... Génie Electrique

M. LETURCQ ..... Génie Electrique

M. SIRIEYS ..... Génie Civil

M. DURAND G ..... Chimie

M. CARRARA ..... Physique

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M. VERDIER ..... Chimie

PERSONNEL AFFECTE A L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE DE TOULOUSE

MAITRES DE CONFERENCES

M. MARTIN ..... Génie Electrique

M. PERENNOU ..... Informatique

M. THENOZ ..... Minéralogie

CHARGE D'ENSEIGNEMENT

M. REY ..... Génie Electrique

ADMINISTRATION

M. PRINEAU ..... Conseiller Administratif des Services Universitaires.

A MA FEMME,

A MES PARENTS,

A MES ENFANTS,

A TOUS LES MIENS,

En témoignage de mon affection.

Avant d'exposer les résultats de ce travail, qu'il me soit permis d'exprimer ma respectueuse gratitude aux membres du jury de ma thèse :

A Monsieur le Professeur R. DERACHE à qui je dois l'orientation de ce travail et le meilleur de ma formation scientifique. Je le remercie du temps qu'il m'a largement consacré, de ses conseils compétents et de ses encouragements enthousiastes; au cours de ces années passées sous sa bienveillante direction, il m'a toujours témoigné son amicale attention. Qu'il soit sûr de mon respectueux et fidèle attachement.

A Monsieur le Professeur J.F. CIER, Doyen Honoraire, Directeur du Laboratoire de Physiologie A de la Faculté de Médecine de Lyon, dont j'ai profité de la rigueur et de la clairvoyance scientifiques qui m'ont été fort utiles dans l'élaboration de cette thèse. Je lui suis très reconnaissant de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de me parrainer au C.N.R.S., de revoir mon manuscrit et de juger ce travail malgré ses nombreuses occupations. Qu'il veuille bien agréer, avec le témoignage de ma déférente gratitude, l'hommage de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur S. BONFILS, Directeur de l'Unité de Gastro-entérologie (I.N.S.E.R.M. - U.10), dont la haute compétence et l'aimable disponibilité m'ont été précieuses pour l'achèvement de ma thèse. Je le remercie spécialement de la bienveillante et critique attention avec laquelle il a corrigé mon manuscrit. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mes respectueux sentiments.

A Monsieur le Professeur P. RAYNAUD dont j'ai eu l'avantage de suivre l'enseignement de Physiologie. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance pour avoir bien voulu juger ce mémoire.

Je voudrais dire toute ma gratitude à Monsieur le Doyen et Madame J. BLAIZOT qui m'ont fait profiter de leur grande expérience, ainsi qu'à Monsieur le Professeur R. AGID.

Je tiens à remercier également tous ceux qui m'ont aidé dans mon expérimentation et qui ont contribué à faire régner dans l'équipe, la sympathique atmosphère de travail : Melle D. GAILLARD et Mr S. MITJAVILA qui m'ont toujours apporté leurs concours avec amitié, Mr TRAN VAN TUAN dont j'ai estimé dès son arrivée l'exhubérante et agréable personnalité, Melle M.T. BOUAS pour son dévouement efficace, Mme BELLIURE et Mme CODOUL pour leur aide technique appréciée. Je ne saurais oublier dans ces remerciements Mme GUITTARD et Mr A. BELLIURE qui ont uni leurs efforts pour réaliser avec soin la présentation de ce travail.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE : METHODES D'ETUDE DE LA SECRETION GASTRIQUE CHEZ LE RAT 19

DEUXIEME PARTIE : HYPERSECRETION GASTRIQUE INDUITE PAR L'ETHANOL CHEZ LE RAT 49

TROISIEME PARTIE : MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE. 69

CHAPITRE I : ACTION DIRECTE DE L'ETHANOL ET ROLE DE L'INNERVATION VAGALE..... 73

CHAPITRE II : ROLE DES INTERMEDIAIRES DE LA SECRETION GASTRIQUE..... 93

CHAPITRE III : ROLE DU METABOLISME DE L'ETHANOL. 167

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS GENERALES..... 203

RESUME..... 213

BIBLIOGRAPHIE..... 219

INDEX DES FIGURES..... 245

INDEX DES TABLEAUX..... 247

INTRODUCTION

I - OBJET DU TRAVAIL.

II - ACTIONS TOXIQUES DE L' ALCOOL SUR L'ORGANISME.

A. Toxicité aiguë.

B. Toxicité chronique.

III - LA SECRETION GASTRIQUE NORMALE.

A. Mécanisme de la sécrétion.

1° La sécrétion d'acide chlorhydrique.

a - Processus métaboliques et formation de l'ion H^+.

b - Transport des ions H^+ et Cl^- à travers la membrane.

2° - La sécrétion des autres constituants du suc gastrique.

B. Rôle des médiateurs chimiques.

1° - L'histamine.

2° - La gastrine.

3° - Mécanisme d'action.

IV - PRESENTATION DU TRAVAIL.

INTRODUCTION

L'alcool éthylique en tant qu'agent nutritionnel et pharmacologique peut avoir une double action sur l'organisme selon la quantité ingérée et la répartition dans le temps car, élément bien utilisé à dose modérée, il provoque en même temps des effets pharmacologiques qui s'accentuent avec la dose et la durée d'ingestion. C'est certainement la raison de ce double aspect qui rend complexe l'étude des influences physiologiques de l'éthanol puisque l'on se trouve en présence d'un terrain où se conjuguent à la fois des effets calorigènes, nutritionnels, pharmacologiques et toxiques, aboutissant en définitive à un ralentissement des fonctions physiologiques fondamentales de l'organisme .

Ainsi est-il actuellement bien établi que l'alcool peut être considéré comme un aliment pour l'Homme ou l'Animal convenablement nourri à condition que la part de calories alcooliques de la ration ne soit pas trop importante (117) ; une fois absorbé, l'alcool-aliment qui exerce par ailleurs un effet d'épargne de la dépense azotée, est parfaitement oxydé dans l'organisme en CO_2 et H_2O , en présence de plusieurs systèmes enzymatiques connus et l'énergie qui en résulte peut être utilisée pour couvrir une partie des oxydations bien qu'elle n'interviendrait cependant ni pour la lutte contre le froid ni pour le travail musculaire (287) ; mais si l'éthanol est un aliment il peut néanmoins devenir rapidement un aliment toxique d'autant plus que la consommation de boissons alcooliques se trouve très fréquemment associée à des états de dénutrition et de malnutrition prononcés ; l'alcool prend alors souvent la place des aliments habituels et indispensables si bien que la ration devient ainsi gravement déficitaire ; en effet LE BRETON et TREMOLIERES (287) ont souligné que la toxicité chronique de l'alcool est liée à trois facteurs : d'abord l'alcool accroît le besoin en certaines substances de protection comme les facteurs lipotropes, ensuite la consommation de boissons alcoolisées est souvent associée à des manifestations d'avitaminoses,

enfin certains régimes alcooliques sont carencés en calories bien utilisables ainsi qu'en protéines, et engendrent des états de dénutrition protéique extrêmement sévères. De plus il ne faut pas perdre de vue que le problème de l'intoxication alcoolique est plus complexe que le seul fait "alcool" et qu'en plus de la distorsion nutritionnelle se surajoute un effet proprement toxique de composés autres que l'éthanol comme le tanin ou les alcools supérieurs présents dans les boissons fermentées courantes à des taux qui sont souvent loin d'être négligeables.

Enfin il apparaît que l'alcool éthylique possède des propriétés physicochimiques capables de modifier les réactions physiologiques de l'organisme et ces différents aspects ont fait l'objet de nombreux travaux. Etant donné d'ailleurs la rapide répartition de l'alcool dans le compartiment corporel aqueux après son ingestion on peut dire que cette substance est susceptible de modifier la plupart des fonctions métaboliques (145), nerveuses (250), circulatoires (250) hormonales (408) et digestives (405).

Il semble par exemple que les principales conséquences métaboliques d'une intoxication alcoolique soient le résultat d'une accumulation de nicotinamide adénine dinucléotide sous forme réduite ($NADH_2$) qui apparaît au cours de la dégradation enzymatique de l'éthanol ; les différentes oxydations sont alors diminuées à cause de ce déséquilibre des systèmes rédox de l'organisme dans un sens réducteur, et ceci entraîne les troubles que l'on connait comme l'hypoglycémie, la stéatose hépatique ou l'acidose. Par ailleurs il est connu que l'ingestion de fortes quantités d'alcool provoque aussi des altérations de l'activité nerveuse , du fonctionnement cardio-vasculaire et de la régulation hormonale dont l'origine n'est pas toujours très explicite.

Les effets de l'éthanol sur le tractus digestif peuvent , quant à eux, se situer à trois niveaux caractérisés d'abord par une modification des muqueuses selon la concentration et la quantité absorbées, ensuite par un changement de la motricité gastrointestinale et peut-être aussi des phénomènes d'absorption, enfin par l'influence sur les sécrétions digestives notamment sur la sécrétion gastrique que nous nous sommes proposés d'étudier.

I - OBJET DU TRAVAIL .

Comme nous le verrons ultérieurement d'une manière détaillée , l'hypersécrétion gastrique induite par l'éthanol est une action classiquement connue. Il faut néanmoins souligner que cet effet sécrétagogue de l'alcool n'est pas général car les flux salivaire et biliaire par exemple ne sont apparemment pas perturbés au cours d'une administration d'alcool alors que les sécrétions intestinale et pancréatique sont stimulées en même temps que la fonction sécrétoire de l'estomac.

Si ces faits ne sont donc plus à démontrer, il n'en est pas de même des mécanismes mis en jeu dans ce type de phénomène, pour lesquels il a été proposé plusieurs hypothèses souvent contradictoires. C'est ainsi que, dans le cas de l'hypersécrétion gastrique, de nombreux auteurs ont pensé que l'origine de cette stimulation pouvait être par exemple la distension des parois, la libération d'histamine ou l'excitation vagale mais on est obligé de reconnaitre d'une part que les preuves expérimentales manquent souvent, d'autre part que les propositions avancées rendent mal compte des faits observés.

Dans ces conditions notre attention a été attirée sur cet aspect précis pour plusieurs raisons : d'abord parce que la consommation des boissons alcoolisées en France est très importante et qu'elle est souvent une cause déclenchante ou aggravante de nombreux troubles pathologiques sur lesquels il est inutile de revenir ici ; ensuite parce que la présence d'alcool dans la ration modifie l'état nutritionnel par suite d'une perte d'appétence et diminue notamment la proportion de certains types d'aliments ; enfin parce que la physiologie gastrique normale est encore pleine d'inconnues en ce qui concerne non pas tellement la composition du suc mais plutôt les conditions de la sécrétion.

Aussi avons-nous pensé utile d'envisager ces différents problèmes pour tenter de caractériser d'un côté de rôle de l'alcool dans l'alimentation et son effet sur une partie ou sur une fonction de l'appareil digestif, d'un autre côté l'influence de facteurs variés sur la sécrétion gastrique.

. . .

Cependant avant d'aborder l'objet strict de notre étude c'est-à-dire la recherche du mécanisme de l'hypersécrétion gastrique induite par l'éthanol chez le rat, nous avons cru devoir rappeler quelques éléments concernant la toxicité de l'éthanol et les conditions normales de la sécrétion gastrique ; cela nous permettra ainsi de situer notre travail dans un contexte bibliographique d'une part vis-à-vis de la pathologie de l'alcool et d'autre part vis-à-vis des phénomènes nerveux, humoraux ou métaboliques de l'estomac.

. . .

II- ACTIONS TOXIQUES DE L'ALCOOL SUR L'ORGANISME.

Les différentes actions de l'éthanol sur les grandes fonctions physiologiques comme nous venons de les mentionner sont en réalité des images plus ou moins nettes de la toxicité de cette substance ; en effet l'action dépressive sur le système nerveux, l'accumulation des triglycérides dans le foie ou la modification du fonctionnement cardiovasculaire sont déjà des troubles que l'on peut attribuer à une influence toxique de l'alcool. En fait, la toxicité propre de l'éthanol est évidemment fonction d'une part de la quantité,de la dilution et de la voie d'administration de la substance en cas d'intoxication aiguë,d'autre part de ces mêmes facteurs et de la durée de traitement en cas d'intoxication chronique.

A. Toxicité aiguë.

Les différents résultats que l'on peut rencontrer à ce sujet dans la littérature se rapportent à des tests utilisés couramment en toxicologie comme la dose léthale (D.L.) ou la dose léthale 50 (D.L.50). Nous avons porté dans le tableau n° 1 les données classiques de ces valeurs (316) chez un certain nombre d'animaux et pour des voies d'administration différentes. On peut noter que le Rat est particulièrement résistant à l'intoxication alcoolique, surtout lorsque l'éthanol

TABLEAU N° 1

Doses léthales de l'éthanol pour quelques espèces animales.

	Dose léthale 50 ou dose léthale (D.L.) en g par Kg de poids corporel			
Voies d'administration	Orale	Sous-cutanée	Intrapéritonéale	Intraveineuse
Grenouille	-	7,1 - 7,9 (D.L.)	-	-
Souris	9,5	8,3	-	2,0
Rat	13,7	-	5,0	4,2
Cobaye	-	-	5,6	2,4
Lapin	6,3 - 9,5	-	-	9,4 (D.L.)
Chat	-	-	-	3,9 (D.L.)
Chien	5,5 - 6,6(D.L.)	6,0- 8,0(D.L.)	-	5,4 (D.L.)
Enfant	3,0 (D.L.)	-	-	-
Homme	7,5 - 9,5(D.L.)	-	-	-

est donné par voie orale ; cependant cet animal réagit à des doses inférieures et la limite de toxicité au sens strict du terme est difficile à apprécier ; par exemple une injection intrapéritonéale de 3 g par Kg de poids corporel déclenche une involution thymique en 24 heures, et deux injections à 48 heures d'intervalle dans les mêmes conditions produisent une pancréatite nécrotique chez le Rat (451) ; de plus la stéatose hépatique est maximum chez cet animal 16 heures après administration orale de 6 g par Kg de poids corporel, en solution à 50 pour 100 (154).

B. Toxicité chronique.

Chez l'Homme la consommation prolongée et exagérée d'alcool sous forme de boissons alcoolisées entraîne l'apparition de différentes altérations physiopathologiques plus ou moins graves, couramment définies sous le terme d'alcoolisme et dont nous n'aborderons pas ici la description. Chez le Rat il n'a pas été possible d'obtenir une cirrhose alcoolique typique ; on a pu cependant observer dans le foie de cet animal, d'une part une diminution de la concentration de certains constituants comme les acides nucléiques, les phospholipides ou les vitamines hydrosolubles et d'autre part un abaissement des activités transaminasiques comme celles de la transaminase glutamate-pyruvate. Par ailleurs l'étude de la toxicité chronique de l'éthanol pose le problème de l'accoutumance ; différents travaux principalement cliniques, ne permettent pas d'établir actuellement des conclusions très nettes sur ce sujet car il n'a pas été encore déterminé avec certitude les facteurs susceptibles de participer à ce phénomène ou de le contrôler. Par exemple la modification de la vitesse d'oxydation de l'alcool, les réactions hormonales métaboliques, vitaminiques ou alimentaires sont des éléments qui interviennent jusqu'à un certain degré d'intoxication, pour restreindre peut-être les altérations provoquées par l'éthanol, sans que l'on puisse délimiter pour autant le niveau critique où se produit un dérèglement pathologique irréversible.

En définitive il apparaît que l'éthanol à dose aiguë faible, c'est-à-dire au maximum égale à 2 g par Kg de poids corporel chez le Rat, et en solution diluée n'entraîne que peu de modifications pathologiques alors qu'à des doses plus élevées on obtient des altérations profondes des différentes fonctions physiologiques ; si au contraire le traitement alcoolique est chronique, il peut provoquer à la longue des troubles métaboliques, nerveux ou digestifs, troubles qui chez l'Homme seront d'autant plus graves et d'autant plus irréversibles que la consommation alcoolique aura été associée à un déséquilibre alimentaire. C'est donc dire par là toute l'importance que peuvent avoir des travaux concernant différentes réactions physiologiques de l'animal vis-à-vis

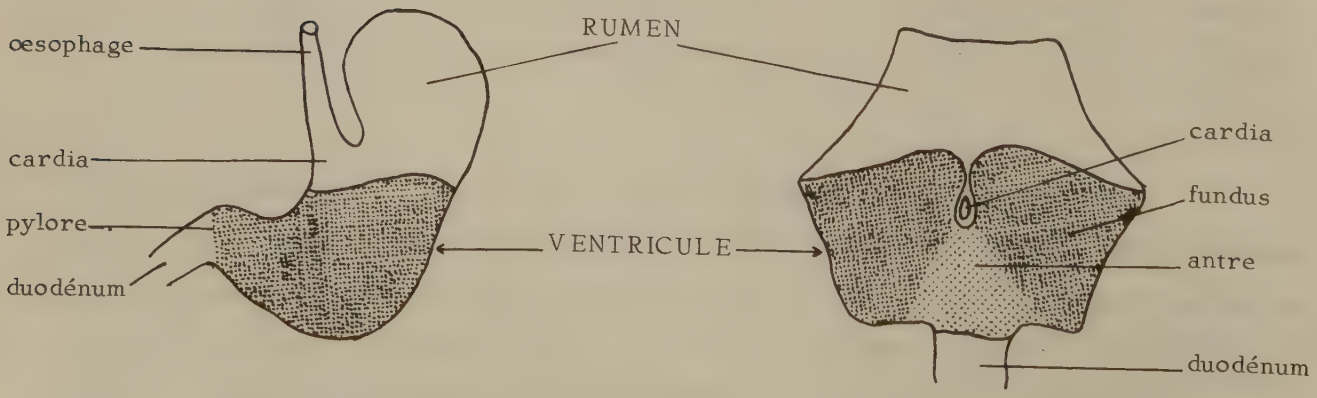
de l'alcool et ainsi notre travail concernant le mécanisme de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol, peut-il être regardé également comme une contribution à la recherche des effets physiopathologiques de cette substance.

III - LA SECRETION GASTRIQUE NORMALE.

On sait que le suc gastrique est un mélange de sécrétion d'au moins quatre sortes de cellules qui, chez le Rat, se trouvent dans la zone ventriculaire : les cellules pariétales, source de l'acide chlorhydrique, les cellules principales source de la pepsine, les cellules mucoïdes et enfin les cellules du collet qui secrètent le mucus et un suc légèrement alcalin. La sécrétion gastrique normale contient donc en solution dans l'eau, des électrolytes dont H^+ et Cl^- , une enzyme protéolytique (la pepsine),du mucus, le facteur intrinsèque, des protéines d'origine plasmatique , des constituants organiques comme l'acide lactique et des enzymes non protéolytiques comme l'uréase.

Par ailleurs, nous rappellerons brièvement la structure morphologique de l'estomac de Rat qui est constitué de deux zones macroscopiquement visibles :

- le rumen , (appelé également forestomac) sorte de prolongement de l'œsophage.
- le ventricule , (ou zone glandulaire) constitué du fundus et de l'antre, siège de l'activité sécrétoire et péristaltique.



ESTOMAC NORMAL DE RAT

- à gauche: aspect général.
- à droite : disposition des différents éléments après ouverture de l'estomac le long de la grande courbure.

A. Mécanisme de la sécrétion.

1°- La sécrétion de l'acide chlorhydrique.

Lorsque la sécrétion est stimulée par l'histamine, la concentration de l'ion hydrogène augmente avec la vitesse de cette sécrétion (354) jusqu'à un plateau et l'ion hydrogène qui, dans le plasma se trouve à la concentration de 5×10^{-5} m Eq par litre , est environ un million de fois plus concentré dans le suc gastrique. La sécrétion d'un litre de suc acide requiert environ 1500 calories et le problème de la formation de l'acide chlorhydrique qui a fait l'objet de nombreuses théories examinées récemment par MARTIN et LAMBERT (320) peut être considéré sous deux aspects complémentaires (357) : d'une part les processus métaboliques responsables de l'apport énergétique et de la formation de l'ion H^+ , d'autre part le transport des ions H^+ et Cl^- à travers les membranes.

a - Processus métaboliques et formation de l'ion H^+.

Il est admis à l'heure actuelle que l'énergie nécessaire à ce processus provient surtout des liaisons phosphates riches en énergie (399) dont la formation se fait à partir du métabolisme anaérobie et aérobie des cellules de la muqueuse (100, 309) ; ces phénomènes se déroulent de la même manière que dans les autres cellules de l'organisme avec les mêmes enzymes (374) et la présence d'inhibiteurs enzymatiques comme l'iodoacétate empêche la sécrétion (101) . Le dinitrophénol, découplant la phosphorylation oxydative et diminuant la quantité d'ATP dans la muqueuse gastrique, inhibe la sécrétion acide sans réduire la consommation d'oxygène (129) , alors que le thiocyanate qui n'est pas un découplant et qui ne modifie pas l' ATP inhibe également la sécrétion acide en agissant probablement au niveau de l'élaboration des précurseurs à haute énergie (147). La présence d'une ATPase dans la muqueuse gastrique permet également de penser qu'il existe un transfert d'énergie dont le mécanisme est complexe (252).

Par ailleurs la consommation d'oxygène est liée à la production d'acide (340) et le rapport entre les ions H^+ produits et les molécules d'oxygène consommées est inférieur à 4 pendant la période active de sécrétion (337) ce qui signifie qu'il y a moins de 4 ions H^+ sécrétés par molécule d'oxygène consommée, celui-ci n'ayant que quatre sites libres pour accepter les électrons (27).

En ce qui concerne le substrat qui est à l'origine de la production des ions H^+, DAVIES (108) pense qu'il s'agit du glucose ou d'une substance analogue, et KIDDER et coll. (258)

ont montré que le cytochrome c intervient dans le mécanisme de la sécrétion acide. On peut donc penser que l'électron fourni au cours de la dégradation du substrat chemine à travers la chaîne de transport d'électrons pour être accepté par l'oxygène ; quand cette réaction se produit, un ion oxhydryle OH^- est formé pour chaque proton H^+ secrété et le pH de l'intérieur de la cellule s'élève. Si la sécrétion acide se poursuit, l'ion OH^- est neutralisée par la formation d'acide carbonique en présence d'anhydride carbonique ; en effet la cellule gastrique contient beaucoup d'anhydride carbonique CO_2, d'origine métabolique ou sanguine si bien qu'au cours de la sécrétion, les ions OH^- formés sont rapidement remplacés par un nombre égal d'ions bicarbonate ensuite libérés dans le sang veineux. L'hydratation de l'anhydride carbonique en acide carbonique se fait très probablement sous l'influence de l'anhydrase carbonique, présente également en grande quantité dans la muqueuse de l'estomac, car les inhibiteurs de cette enzyme diminuent considérablement la capacité sécrétoire tandis que les activateurs augmentent la sécrétion (121).

Sur la figure n° 1 nous avons schématisé les principales étapes de cette théorie de la formation d'acide , mais il faut encore souligner l'absence de véritables preuves qui confirmeraient cet ensemble d'hypothèses assez séduisantes par ailleurs.

b - Transport des ions H^+ et Cl^- à travers la membrane.

La concentration de chlore dans le suc gastrique (170 mN) est plus élevée que dans le plasma (108 mN) et la surface muqueuse de la zone sécrétoire est électriquement négative par rapport à la surface séreuse, la différence de potentiel étant de l'ordre de 60 à 80 mV (381) ; cette différence de potentiel est due au travail exécuté pour le transport des particules chargées et au travail nécessaire pour la production d'un gradient de concentration. La combinaison de ces deux potentiels connus sous le nom de potentiel électrochimique représente la totalité du travail nécessaire pour le transport des ions contre un gradient de concentration et de potentiel (74).

HOGBEN (218) a identifié l'ion responsable de l'activité électrique de l'estomac de Grenouille comme étant le chlore et il a observé que le flux de Na^+ et de K^+ à travers la muqueuse était beaucoup plus faible que le flux correspondant de Cl^- ; il a également noté que le passage d'ions HCO_3^- de la muqueuse vers la séreuse, c'est à dire dans une direction contraire à celle du transport de Cl^-, mais le mouvement de HCO_3^- est plus faible que celui de Cl^- si bien qu'il n'y a pas d'équilibre entre ces deux ions. Le chlore est donc sécrété contre un gradient électrochimique et il est transporté par un mécanisme actif (92), faisant intervenir ce qui a été appelé une " pompe à chlore " (203). Les cellules de la muqueuse sont imperméables par exemple aux ions sulfates et SHOEMAKER et coll. (424) ont observé sur la muqueuse gastrique isolée

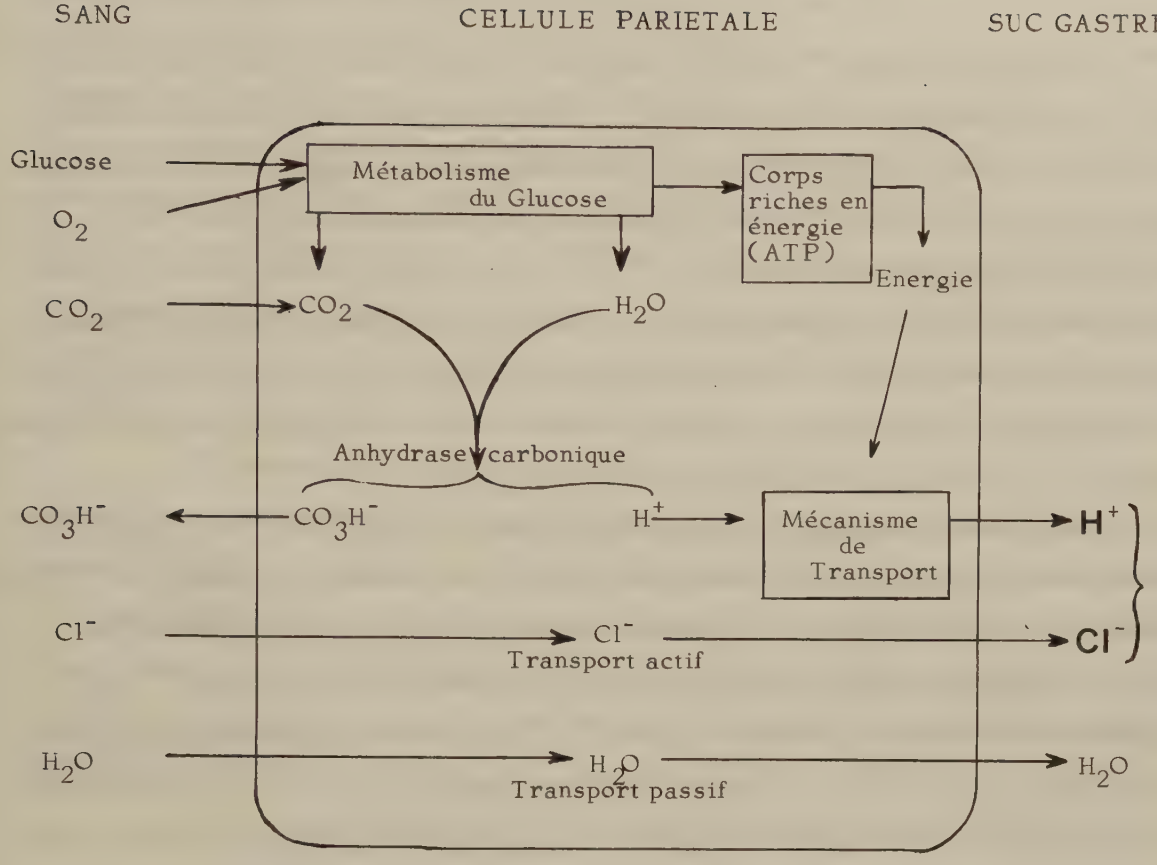


FIGURE N° 1 - Schéma de la sécrétion acide de l'estomac.

de Cobaye que la substitution de Cl^- par SO_4^{--} dans le milieu d'incubation inverse la différence de potentiel si la sécrétion acide est maintenue; ceci pourrait indiquer qu'il y a une certaine indépendance dans le transport des ions H^+ et Cl^-.

En conclusion le mécanisme de la sécrétion d'acide chlorhydrique par la muqueuse gastrique est loin d'être élucidé. On sait seulement qu'il existe deux systèmes séparés de transport pour les ions H^+ et Cl^-, responsables de la différence de potentiel qui peut être modifiée après une stimulation sécrétoire (381) et la liaison entre les deux mécanismes de transport n'est pas totalement connue.

2° - Sécrétion des autres constituants du suc gastrique.

Il est admis que l'eau traverse la muqueuse gastrique dans les deux sens car CODE et coll. (91) ont observé que 2,5 pour 100 de l'eau deutériée placée dans l'estomac humain, se retrouvent dans le sang au bout d'une minute, indépendamment de l'osmolarité ; de plus lorsque le volume gastrique est constant, le flux d'eau du sang vers la lumière est le même que dans l'autre sens. Cependant le passage des ions H^+ dans la poche gastrique modifie les caractéristiques de perméabilité de la muqueuse et stimule le passage d'eau par des mécanismes de transsudation et de sécrétion (103). Par ailleurs MOODY et DURBIN (339) ont montré que la pression hydrostatique intervenait dans le passage de l'eau à travers la muqueuse gastrique du chien.

La présence de sodium dans la sécrétion gastrique a un double rôle, l'un lié au maintien du potassium intracellulaire, l'autre lié à la pression osmotique. En effet DAVENPORT (102) a noté que si on fait incuber de la muqueuse gastrique dans un milieu isotonique sans chlorure de sodium, la sécrétion acide est équivalente aux témoins et ALTAMIRANO (10) n'a trouvé aucune relation entre le flux de Na^+ et de H^+ ; l'acide chlorhydrique diffuserait donc de la cavité gastrique vers l'autre côté de la muqueuse en même temps qu'il se déroulerait une diffusion plus lente de chlorure de sodium dans la direction opposée. Ceci explique que la diminution de l'acidité et l'augmentation du taux de sodium évoluent en fonction inverse de la vitesse de sécrétion (90).

Les mouvements des ions potassium sont très lents à travers la muqueuse gastrique de mammifère et ils sont le résultat de deux flux unidirectionnels opposés. Le taux de potassium de la sécrétion gastrique s'élève après une stimulation à l'histamine et HOLLANDER (219) explique ce phénomène par une sortie de potassium des cellules, analogue à celle qu'on observe dans les autres tissus excitables au cours de l'apparition du potentiel d'action. Il a été montré par ailleurs que le potassium, indispensable à la sécrétion (345) est aussi capable de la stimuler (300).

Le mucus est secrété par des cellules épithéliales de la muqueuse gastrique et son rôle protecteur (328) a été plus étudié que la physiologie de sa sécrétion. La couche visible de mucus est la première protection de la muqueuse et toute agression mécanique, chimique ou thermique augmente généralement la sécrétion de mucus (220).

Enfin, la pepsine est secrétée sous forme de pepsinogène par les cellules spécialisées et les mécanismes complexes de la synthèse et de la sécrétion ont été revus par HIRSCHOWITZ (213) : le pepsinogène est probablement synthétisé par les polysomes, et au niveau de l'appareil de Golgi il se forme en granules qui migrent ensuite vers la paroi extérieure. La décharge des granules provoque une nouvelle synthèse par un mécanisme de " feed-back " et même après une forte stimulation, il reste en général du pepsinogène disponible pour une nouvelle libération. Par ailleurs BABKIN (24) pense que la sécrétion pepsique est liée au balayage par le flux sécrétoire acide d'une certaine quantité du pepsinogène préformé et stocké ce qui explique la relation linéaire souvent observée entre la concentration de l'acide chlorhydrique et celle de la pepsine dans le suc gastrique.

La pepsine peut donc se définir comme un composé de la sécrétion qui dépend des autres substances sécrétées comme l'eau et l'acide mais qui en diffère et dont la cellule productrice est très spécifique puisqu'elle est le siège d'une synthèse protéique ; dans ces conditions les variations que l'on peut observer dans l'activité pepsique du suc gastrique proviennent de plusieurs processus : soit des mécanismes de synthèse, soit de ceux de stockage, soit du passage à travers la muqueuse, et ainsi la sécrétion pepsique peut-elle ne pas être forcément liée à la sécrétion acide (213).

B- Rôle des médiateurs chimiques.

Depuis longtemps il a été reconnu qu'il existait des médiateurs chimiques de nature hormonale contrôlant la sécrétion gastrique. Les expériences classiques qui ont permis d'élaborer cette hypothèse ont été réalisées chez le Chien où des poches gastriques isolées et dénervées présentent une sécrétion acide augmentée lorsque l'on stimule, par exemple par un repas, la partie de l'estomac qui n'est pas isolée. Les substances qui ont été présumées responsables d'une telle action sont l'histamine et la gastrine que l'on a cru associées pendant longtemps.

1° - L'histamine

Dans l'ordre chronologique c'est d'abord l'histamine qui a été considérée comme une hormone par SCHAYER et IVY (406); puisque le repas entraîne une libération d'histamine et que l'histamine stimule la sécrétion gastrique, ces auteurs pensent que logiquement l'histamine est bien l'hormone sécrétoire de l'estomac. D'autres faits cependant ont été observés qui pourraient confirmer d'une certaine manière cette action hormonale de l'histamine (231).

- quelque soit la voie d'administration, l'histamine est un puissant agent de la sécrétion gastrique sauf chez le Rat (151, 458) à qui il faut injecter de très fortes doses, de l'ordre de 1 mg pour 100 g de poids corporel ou plus (281) pour obtenir une certaine action, sans déclencher pour autant d'effets toxiques parallèles.

- la muqueuse gastrique est très riche en histamine, surtout dans la zone des cellules pariétales (195) mais cette substance n'est pas ici liée aux mastocytes (443) ; la quantité en est si importante que lorsque de faibles doses sont administrées pour stimuler la sécrétion gastrique, il se trouve en général un grand excès dans la muqueuse ; à titre de comparaison entre quelques espèces animales nous avons rapporté dans le tableau n° 2 la quantité d'histamine contenue dans l'estomac parallèlement à la dose active.

TABLEAU N° 2

Teneur en histamine gastrique chez quelques espèces animales et dose active de cette substance sur la sécrétion de l'estomac (d'après KAHLSON et coll. 247).

Espèces animales	Teneur en histanine de l'estomac µg par g de tissu	Dose active d'histamine sur la sécrétion gastrique mg par Kg de poids corporel.	Capacité de formation d'histamine par l'estomac µg par g de tissu frais en 3 heures.
Grenouille	7	-	0,08
Cobaye	7	0,01	0,06
Souris	14	0,5	0,86
Rat	81	1,0 - 10,0	2,00
Chat	28	0,02	0,04
Chien	85	0,003	0,02
Homme	44	0,004	0,04

- l'histidine décarboxylase, l'enzyme permettant la formation de l'histamine à partir de l'histidine, est également présente dans l'estomac et l'activité de cette enzyme varie avec de nombreux facteurs (415) dont la phase digestive (370) et la nature des aliments (159) mais il n'y a apparemment aucune relation entre cette activité enzymatique et la teneur en histamine de l'estomac (370, 443) comme on peut le voir également sur le tableau n° 2.

- l'histamine pourrait être détruite par une diamine oxydase dont l'inhibition potentialise l'effet des stimulants de la sécrétion gastrique (159) mais il n'a cependant pas été

démontré que la diamine oxydase inactive effectivement l'histamine gastrique (415).

2° La gastrine .

L'existence de la gastrine supposée par EDKINS en 1906, a été confirmée en 1964 par GREGORY et TRACY qui ont isolé et identifié chimiquement cette substance à partir de la muqueuse de Porc (179) ; ces auteurs ont ainsi montré qu'il y a en fait deux gastrines : la gastrine I et la gastrine II qui sont des peptides assez semblables contenant 17 acides aminés. Chez le Porc la séquence d'acides aminés de la gastrine I (poids moléculaire : 2 114) est la suivante (180) :

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Glu-	Gly-	Pro-	Trp-	Met-	Glu-	Glu-	Glu-	Glu-	Glu-	Ala-	Tyr-	Gly-	Trp-	Met-	Asp-	Phe-	NH_2

où l'acide glutamique en position 1 est sous forme Pyroglutamyle ; la gastrine II diffère par l'addition d'un groupement-SO_3 H sur la tyrosine en position 12. Par la suite la présence et l'identification chimique de gastrine ont été réalisées chez quelques mammifères (256), mais chez le Rat la substance a été isolée sans que l'on puisse en faire l'analyse chimique (173). Cependant YALLOW et BERSON (486) ont signalé en 1970 que la véritable gastrine antrale était probablement une molécule plus importante que celle habituellement connue et qu'elle se composerait de l'heptadécapeptide lié à un peptide plus basique, l'ensemble ayant un poids moléculaire de l'ordre de 7.000.

Par ailleurs le rôle physiologique de la gastrine a fait l'objet d'un n ombre considérable de travaux expérimentaux dont les résultats ont été revus récemment par GREGORY (181), GROSSMAN (188), THOMPSON (447) et VAGNE (457).

- la gastrine est un puissant stimulant des sécrétions acide et peptique ; chez le Chien par exemple elle est 30 fois plus puissante que l'histamine sur une base pondérale et presque 600 fois sur une base moléculaire ; chez le Rat on observe une hypersécrétion très marquée pour des doses de 0,5 à 5 µg de gastrine de Porc mais les résultats varient selon la technique de collection du suc. Il a été montré également que cette substance augmente la motilité gastrique ainsi que la sécrétion de mucus et celle du facteur intrinsèque.

- la gastrine est sécrétée au niveau de la muqueuse gastrique et on a cherché à identifier les cellules spécifiquement sécrétrices de gastrine : SOLCIA et coll. (432) ont indiqué une technique de coloration histochimique qui permettrait de repérer ces cellules au microscope électronique ; BAUGH et coll. (37) et WOODWARD et coll. (484) ont suggéré que ce pourrait être des cellules ganglionnaires du plexus de Meissner, cellules modifiées de type neurosécrétoire; les cellules réceptrices du stimulus déclenchant la sécrétion seraient localisées dans l'épithélium colonnaire et en relation avec les cellules secrétrices de gastrine par une liaison nerveuse, courte, intrapariétale (282) de type cholinergique (188). Ces cellules de type endocrinien se trouveraient dans les glandes pyloriques car les plus hautes activités gastriniques apparaîtraient dans les parties les plus profondes de la muqueuse antrale (72) ; elles n'existent pratiquement pas dans les autres parties de l'appareil digestif sauf dans un certain type de tumeur pancréatique et peut-être dans le duodénum (133). Par des méthodes d'immuno-fluorescence le siège exact des cellules à gastrine a cependant pu être précisé (490).

- le mécanisme de la libération de gastrine par un repas exigerait des connections nerveuses reliant les cellules réceptrices aux cellules sécrétrices de gastrine et DRAGSTEDT et coll. (126) pensent que l'acétylcholine stimule directement les cellules à gastrine. GROSSMAN (187) admet que la régulation de la libération gastrinique antrale se fait sous l'influence de trois facteurs qui sont d'abord la stimulation vagale, ensuite la distension et la stimulation chimique agissant localement sur les glandes pyloriques, enfin l'inhibition par la présence d'acide dans la zone antrale de l'estomac, mais ces trois facteurs peuvent agir ensemble ou séparement.

3° - Mécanisme d'action.

Il y a donc beaucoup de raisons de penser que l'histamine d'une part, la gastrine d'autre part peuvent être des hormones intervenant sur la sécrétion gastrique,et le problème qui s'est posé et qui se pose encore,est de savoir quelle est la véritable hormone ou,en d'autres termes, quel est le médiateur ultime de la sécrétion.

L'idée d'un rôle hormonal possible de l'histamine sur la cellule pariétale a été émise par MAC INTOSH en 1938 (308) et reprise par la suite si bien que CODE en 1956 (89) suggérait que " l'histamine est le stimulant chimique, local et ultime des cellules pariétales de la muqueuse gastrique". De nombreux auteurs ont repris ce point de vue par la suite de même que parallèlement s'est developpée l'hypothèse de l'action hormonale de la gastrine indépendante de celle de l'histamine. Au cours de ces dernières années, le rôle hormonal de l'histamine a été

soutenu par un certain nombre d'auteurs. C'est ainsi que SHORE (426) pense que l'histamine est le stimulant final de la cellule pariétale car l'excitation vagale mobilise l'histamine de la muqueuse et augmente la sécrétion ; de même HAKANSON et coll. (193) ont noté que certaines amines controlent la sécrétion et que l'histamine serait alors un intermédiaire des effets de la gastrine ; par ailleurs LEVINE (294) a observé chez l'Homme que l'inhibition de l'histidine décarboxylase diminue l'action gastrinique mais n'empêche pas l'hypersécrétion provoquée par l'injection d'histamine, ce qui amène cet auteur à conclure également que l'histamine est le médiateur des effets de la gastrine ; enfin SCHWARTZ et coll. (414) admettent également la prédominance de l'histamine parce que l'activation de l'histidine décarboxylase provoquée par l'insuline ou la nouriture,est diminuée chez le Rat par l'atropine tandis que l'activation induite par la gastrine n'est pas modifiée.

Par contre la gastrine est aussi considérée comme l'hormone spécifique et unique de la sécrétion gastrique par de nombreux autres auteurs. Par exemple PARROT et VASSEUR (364) qui n'ont remarqué aucune relation chez le Cobaye et chez le Rat entre l'activité de l'histidine décarboxylase et l'activité sécrétoire,rejettent l'hypothèse selon laquelle l'histamine de la paroi gastrique interviendrait dans le mécanisme de la sécrétion ; de plus HIRSCHOWITZ (214) a admis que l'histamine n'est pas essentielle à l'action de la gastrine après avoir étudié chez le Chien les différences obtenues avec les deux stimulants et JOHNSON et coll. (243) ont montré de leur coté que la gastrine antrale contrôle l'activité de l'histidine décarboxylase chez le Rat ; ces auteurs interprètent leurs résultats comme étant la démonstration du rôle hormonal spécifique de la gastrine.

En fait à l'heure actuelle le problème reste encore pratiquement entier. Comme le note GROSSMAN (186), aucune expérience décisive n'a permis de démontrer sans ambiguïté soit que l'histamine est l'ultime médiateur de la sécrétion gastrique, soit au contraire qu'elle ne l'est pas. Ce même auteur (187) remarque , chez le Rat, que la quantité et la formation de l'histamine accompagnant la sécrétion peuvent être à l'origine du mécanisme mais que cette hypothèse n'est pas prouvée ; THOMPSON (447) pense que si l'on admet que l'histamine n'est pas l'intermédiaire de l'hypersécrétion induite par la gastrine , la présence et le rôle des grandes quantités d'histamine contenues dans la muqueuse ne sont pas explicables. Comme le pense LECOMTE (288) il semble donc, jusqu'à plus ample information , que l'action de la gastrine soit indépendante de celle de l'histamine ; le problème sera vraissemblablement considérablement éclairci lorsqu'un inhibiteur spécifique des effets excito-sécréteurs de l'histamine aura été découvert ; ce qui importe en réalité c'est le stade terminal du processus de libération, c'est à dire la migration de l'histamine normalement contenue dans la muqueuse fundique jusqu'aux cellules immédiatement voisines gastrino-formatrices ; la démonstration de pareil chaînon intermédiaire est très difficile à apporter.

IV - PRESENTATION DU TRAVAIL.

En conclusion l'objet de notre travail répond à deux optiques différentes : d'abord préciser et démontrer si possible le mécanisme de l'effet hypersécréteur de l'éthanol, ensuite tenter d'approfondir la physiologie de la sécrétion gastrique qui pose encore un certain nombre de problèmes ; nous avons pensé en effet qu'un corps à diffusion aussi rapide que l'éthanol, à métabolisme bien connu, ayant de multiples actions centrales ou circulatoires controlables, pouvait constituer une substance test d'approche de la physiologie gastrique. De plus étant admis que l'éthanol détermine lors de son ingestion des effets analogues à ceux de certains aliments, on peut estimer que nous disposons là d'une substance de choix pour étudier la physiologie digestive proprement dite dans diverses conditions. C'est cet ensemble de faits qui nous a amené à aborder le sujet de notre travail et au fur et à mesure de son déroulement, nous nous sommes aperçus que nos résultats justifiaient souvent notre choix optionnel de départ :

— le premier problème qui s'est posé a été la recherche ou l'application de méthodes d'étude de la sécrétion gastrique chez le Rat. En effet il fallait posséder un certain nombre de techniques rigoureuses, d'abord pour recueillir la sécrétion dans des conditions expérimentales acceptables chez cet animal, puis pour analyser certains constituants de cette sécrétion.

— une fois que nous possédions ces moyens et que nous en connaissions les limites, nous avons tenté de déterminer et de controler avec le plus de précision possible le déroulement du phénomène qui nous intéressait ; effectivement l'appréciation des différentes phases éventuelles et des conditions normales de réponse sécrétoire lorsque le Rat est soumis à un traitement alcoolique quelconque, nous a paru indispensable avant de nous attacher à l'étude du mécanisme.

— puis nous avons recherché si l'éthanol modifie l'influence de divers facteurs dans la sécrétion gastrique ; ainsi avons-nous d'abord étudié le rôle de l'intervention vagale dans le phénomène c'est à dire que nous avons recherché l'existence possible d'une relation entre l'hypersécrétion gastrique et les stimulations du nerf vague ; de plus, étant données les propriétés physicochimiques de l'éthanol nous avons essayé de mettre en évidence une liaison éventuelle entre l'action directe de cette substance sur la cellule gastrique et son effet sur la sécrétion. La possibilité

d'une voie hormonale a ensuite été envisagée et nous avons recherché dans ce but les variations éventuelles des teneurs en histamine et en gastrine, tant dans quelques organes de l'appareil digestif que dans les urines, lorsque le Rat est soumis à une administration d'alcool. Enfin nous avons examiné l'hypothèse d'une action métabolique de l'alcool au niveau gastrique, qui pourrait favoriser d'une manière ou d'une autre la sécrétion gastrique.

En résumé notre travail comprend donc plusieurs parties :

1°- une mise au point des techniques utilisables pour l'étude de la sécrétion gastrique chez le Rat.

2°- une étude des caractères de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol.

3°- la recherche du mécanisme de cette hypersécrétion pour laquelle nous avons analysé les différentes possibilités :

a- l'influence du nerf vague

b- l'influence d'une action locale de l'éthanol

c- l'influence d'une libération hormonale

d- l'influence d'un effet métabolique de l'alcool

Enfin les différents résultats seront discutés dans leur ensemble et nous essaierons d'en tirer des conclusions.

PREMIERE PARTIE

METHODES D' ETUDE DE LA SECRETION GASTRIQUE CHEZ LE RAT

I - TECHNIQUES OPERATOIRES.

A. Les méthodes " in vivo "

1°- Les fistules

2°- Les poches

3°- Les repas tests

4°- La ligature du pylore

5°- La perfusion de la cavité gastrique

B. Les méthodes " in vitro "

1°- Travaux antérieurs

2°- Travaux personnels

II - TECHNIQUES CHIMIQUES.

A. Mesure de l'acidité du suc gastrique

B. Dosage de la pepsine

1°- Travaux antérieurs

2°- Méthode utilisée

III - ETUDE CRITIQUE DES TECHNIQUES OPERATOIRES UTILISEES.

A. Les fistules
B. Les poches
C. La ligature du pylore
D. La perfusion de la cavité gastrique
E. L'estomac isolé

IV - DISCUSSION ET CONCLUSION.

PREMIERE PARTIE

METHODES D'ETUDE DE LA SECRETION GASTRIQUE CHEZ LE RAT

I- TECHNIQUES OPERATOIRES.

L'étude de la sécrétion gastrique chez le Rat a été longtemps freinée par la difficulté de posséder une technique de collection valable ; à l'heure actuelle d'ailleurs, le grand nombre de procédés utilisés laisse penser que l'on ne possède pas la méthode ideale ; il est vrai que l'estomac de Rat peut paraître au premier abord plus difficile à étudier que celui du Chien ou de l'Homme, ne serait-ce que par sa taille qui conditionne plus ou moins directement la quantité du suc ; le faible volume de sécrétion, obtenu dans une période expérimentale courte, est justement un empêchement pour effectuer des analyses plus complètes ; mais un des avantages de l'utilisation du Rat dans une telle étude réside par exemple dans le fait que leur manipulation peut se faire plus facilement et à une échelle plus grande que celle du Chien. Le Rat est d'ailleurs un animal très utilisé dans les études pharmacologiques de l'estomac et notamment dans les recherches des substances antiacides et anti-ulcéreuses.

De toutes façons et quelque soit l'animal choisi, la méthode doit répondre à certaines exigences qui ont été définies par LAMBERT (277) : d'abord le suc doit être recueilli dans des conditions physiologiques sans perturbation de la motilité gastrique, de l'irrigation sanguine et sans traumatisme chirurgical ; ensuite les soins post-opératoires ne doivent pas être trop longs et ne pas modifier la sécrétion ; enfin les essais réalisés plusieurs fois sur le même animal doivent donner des résultats reproductibles. Les diverses méthodes utilisées chez le Rat obéissent à quelques uns de ces critères et l'emploi de plusieurs techniques pour étudier un phénomène peut éliminer certaines causes d'erreurs ; c'est la raison qui nous a fait utiliser des méthodes différentes pour étudier la réponse de l'estomac à un traitement alcoolique, comme nous le verrons dans la 3e partie de ce chapitre.

D'une manière générale on peut séparer deux grands types de méthodes d'étude de la sécrétion gastrique chez le Rat : les méthodes " in vivo " et les méthodes " in vitro ".

A. Les méthodes " in vivo ". Ce sont les plus employées et celles qui offrent une grande variété de moyens ; dans une étude préliminaire nous avons appliqué un certain nombre d'entre elles,utilisées pour la constance de leurs résultats ainsi que pour leur facilité d'emploi plus ou moins grande. Nous pouvons citer les différents types de fistules, les poches isolées, les repas tests, la ligature du pylore, la " perfusion ".

1° - Les fistules

La fistule chronique, préparée la première fois chez le Rat par IVY et coll.(230) consiste à placer une canule dans la partie non glandulaire de l'estomac pour permettre à la sécrétion de s'écouler à l'extérieur ; la technique opératoire est relativement facile et l'animal supporte bien la canule mais il y a deux inconvénients qui sont l'immobilisation de l'animal pendant l'expérience et la perte du suc à travers le pylore. Une adaptation de ce type de fistule a été réalisée par BONFILS et coll. (61) : il s'agit de placer une canule dans le duodénum et de la faire remonter légèrement dans l'estomac, puis de ligaturer le pylore ; la sécrétion est totalement collectée mais l'animal doit être plus ou moins immobilisé ; cette méthode a cependant l'avantage de pouvoir obtenir pour chaque animal une période témoin puisque l'expérience peut durer six heures et que le volume moyen recueilli est de l'ordre de 3 à 4 ml.

2° - Les poches

Les poches gastriques sont surtout utilisées chez le Chien mais certains auteurs ont appliqué cette méthode chez le Rat. Ainsi ALPHIN et LIN (7) ont préparé une poche énervée de HEIDENHAIN tandis que SVENSSON (439) a appliqué la technique de la poche innervée de PAVLOV chez le Rat. Ce sont des méthodes qui ont le grand avantage de produire une sécrétion non souillée mais la difficulté de la technique opératoire et la nécessité des soins consécutifs,empêchent une étude systématique sur de telles préparations.

3°- Les repas-tests.

La mesure de l'acidité gastrique a été réalisée également par une autre méthode qui ne nécessite aucune opération chirurgicale; THORNTON et CLIFTON (449) ont administré à des rats par voie intragastrique un " repas test " contenant du rouge phénol dans une solution de saccharose; au bout d'un certain temps on aspire le contenu gastrique et la coloration du rouge phénol mesurée alors,permet de calculer l'acidité libérée par l'estomac. Cette méthode peut être utilisée ainsi (21) ou en administrant une résine échangeuse d'ions à la place du rouge phénol (434).

4°- La ligature du pylore (estomac de SHAY)

La ligature du pylore (422) est très largement employée dans les études de sécrétion gastrique chez le Rat (423). Bien que l'opération soit simple elle nécessite certaines conditions : d'abord l'estomac doit être " propre " c'est-à-dire qu'il ne doit contenir aucun reste d'aliments ; le jeûne est indispensable pour avoir des résultats corrects , et pour cela l'animal est isolé dans une cage où la grille du plancher est tressée suffisamment large pour laisser passer facilement les excréments. Cette précaution s'est révélée en général suffisante et l'emploi de cage réduite du type de celle de BOLLMAN (60) n'est pas nécessaire dans ce cas. La durée de cette période de jeûne est difficile à choisir et elle influe très fortement sur l'état de l'estomac ; SKORYNA et WEBSTER (428) proposent 12 heures, mais de nombreux auteurs laissent les animaux au jeûne 24 heures (310) et même 48 heures (395, 422) . Il est apparemment logique de penser que plus le jeûne est long, plus l'estomac sera vide mais il ne faut pas exagérément augmenter cette période car on peut alors avoir des troubles nutritionnels et secrétoires (277). Certains auteurs privent les animaux d'alimentation solide pendant 2 ou 3 jours mais leur donnent une boisson contenant du glucose (331, 418) ou une association de glucose et de chlorure de sodium (77). Pour notre part, lorsque nous avons réalisé des ligatures du pylore sur des séries de rats, nous avons isolé les animaux à 14 heures en leur laissant seulement de l'eau de boisson à volonté et nous les avons opérés le lendemain à 10 heures soit après une période de 20 heures de jeûne; au cours de travaux préliminaires nous avons d'ailleurs pu vérifier que ces conditions de jeûne n'entraînent pas de répercussions sécrétoires ou hydrolytiques au niveau de l'estomac. En expérimentant de cette manière nous avons éliminé les variations dûes au rythme nyctéméral car si la sécrétion gastrique est continue, elle n'est pas régulière ; de plus nous avons observé que l'estomac est vide au moment de l'opération sauf dans les cas de coprophagie qui font éliminer les résultats.

Le choix de l'anesthésique ne pose pas de problème dans la ligature du pylore; à cause de la brièveté de l'intervention, l'éther est en effet le produit le plus courammment utilisé dans ce cas et LEE et THOMPSON (289) ont montré qu'il ne modifiait pas la sécrétion.

Quant à la technique opératoire elle ne présente pas de grandes difficultés. Après anesthésie on fait une incision médiane d'environ 2 cm, au dessous de la plaque sternale, à l'animal étendu sur le dos ; l'estomac se trouve au dessous du lobe gauche du foie et on retire avec précaution le duodénum qui se trouve presque au centre; on découvre ainsi le pylore et au moyen d'une pince à bouts courbes on passe un fil de lin juste au niveau de la constriction pylorique en faisant attention de ne pas détériorer la vascularisation sanguine à cet endroit; on ligature ce fil puis on referme l'incision abdominale en faisant deux ou trois points sur le plan musculaire et en plaçant deux ou trois agrafes

sur le plan cutané. Tout ceci dure moins de 5 minutes et l'estomac ne subit aucun mouvement ou commotion puisqu'il n'est pas touché. Immédiatement après l'opération, l'animal est replacé dans sa cage et laissé à une température ambiante constante comprise entre 20 et 22°C. Dans ces conditions il n'y a aucune complication post-opératoire et les animaux se réveillent rapidement. Certains auteurs (197 201 , 428) ont proposé une ligature supplémentaire au niveau du cardia pour éviter la contamination du suc gastrique par la salive, mais cette méthode est très critiquée car le choc opératoire est important et les inconvénients sont plus grands que les avantages(69).

La ligature pylorique réalisée, l'estomac secrète un suc qui s'accumule d'une manière qui n'est pas strictement proportionnelle au temps. La période choisie dépend de ce que l'on recherche; en effet lorsque SHAY (422) a utilisé sa méthode, c'était d'abord pour provoquer des ulcères ; dans ce cas l'animal au pylore lié est gardé 70 heures mais même avec des périodes plus courtes comme 24 heures (201), 20 heures (278), 19 heures (465), 18 heures (310), 17 heures (73) ou 16 heures (387) , l'ulcération est très importante ; aussi, lorsque l'on réalise des études sur la sécrétion elle-même, choisit-on des périodes de ligature plus courtes : 8 heures (418), 6 heures (326), 5 heures (394), 4 heures (423), 3 heures (331), 2 heures (38), une heure et demie (241) ou même 1 heure (380). Nous verrons plus loin qu'au cours d'une expérimentation sur l'effet de l'alcool nous avons choisi pour diverses raisons 2 h 30, 5 h et 7 h 30 comme temps de sécrétion puis dans une autre expérience sécrétoire, 4 heures.

A la fin de la période de sécrétion choisie, l'animal est de nouveau anesthésié à l'éther et on incise largement la zone abdominale; avec une pince à bouts courbes, on place un fil autour du cardia en passant sous les lobes hépatiques, on ligature, enfin on sectionne l'œsophage d'une part et le duodénum d'autre part ; avec précaution on retire alors l'estomac qui apparaît plus ou moins distendu, on le lave et on le sèche sur du papier puis on fait une légère incision le long de la grande courbure pour faire échapper la sécrétion que l' on recueille dans un bécher ou dans un tube surmonté d'un entonnoir. L'estomac est alors complètement ouvert pour une observation macroscopique de la muqueuse. Le suc gastrique recueilli est immédiatement centrifugé à 3.000 tours pendant 5 minutes et on élimine les sécrétions troubles après centrifugation (saignement, coprophagie) ainsi que celles qui laissent un sédiment supérieur ou égal à 0, 6 ml (423). Dans ces conditions les résultats sont bien reproductibles et ne nécessitent pas un nombre trop important d'animaux.

5°- La perfusion de la cavité gastrique (estomac de GHOSH-LAI)

Cette méthode a été décrite par GHOSH et SCHILD (163) ; elle est basée sur la perfusion de la cavité gastrique de l'estomac de Rat anesthésié, avec une solution de soude diluée et sur l'enregistrement de l'évolution de pH du liquide ainsi perfusé(164).

Cette préparation s'effectue sur des animaux mis au jeûne dans les mêmes conditions que pour la ligature du pylore et sous anesthésie ; cette question d'anesthésie est ici beaucoup plus importante que précédemment car l'animal doit rester anesthésié pendant toute la période expérimentale; dans ces conditions on peut utiliser soit l'uréthane, soit le pentobarbital. Il est connu que l'uréthane ou carbamate d'éthyle utilisé à la dose de 0,8 ml d'une solution à 25 p. 100 dans l'eau pour 100 g de poids corporel par voie intrapéritonéale,provoque chez le Rat une narcose profonde et ce corps a été utilisé pour les perfusions gastriques par GHOSH (163) MANTEGAZZA et PICCININI (317) LAI (276) ; par ailleurs BENNET et HOGBIN (47) ont montré que l'uréthane n'altère pas l'effet de la gastrine dans cette préparation mais il a été observé chez le Rat porteur de fistule chronique que cet agent anesthésique réduit la sécrétion basale (265) ; cependant BARRETT et coll. (33) ont observé en perfusant l'estomac de Rat que l'uréthane déprime beaucoup moins l'acidité que le barbital ou l'halothane. Dans le cas de notre étude nous n'avons pas pu toujours employer l'uréthane à cause de la possibilité d'une interférence métabolique avec l'éthanol ; nous avons alors utilisé le pentobarbital sodique ou éthyl-méthyl-butyl-barbiturate de sodium * en solution à 6,5 pour 100, à la dose de 0,1 ml par 100 g de poids corporel et par voie intrapéritonéale. Il n'empêche pas la sécrétion gastrique (151) bien qu'à forte dose il diminue l'irrigation sanguine de l'antre (476) mais l'inconvénient de ce barbiturique pourtant synergique avec l'éthanol du point de vue de l'anesthésie (190) est sa durée d'action un peu courte, de l'ordre de trois heures ,que l'on peut cependant prolonger en faisant une nouvelle administration. Dans nos conditions d'utilisation le principal avantage du pentobarbital réside dans son action anesthésique à très faible dose. De toute façon et quelque soit l'anesthésique utilisé nous avons placé une canule dans la trachée pour éviter que les sécrétions bronchiques augmentées au cours de l'anesthésie n'asphyxient pas l'animal (163).

En ce qui concerne la technique opératoire, nous nous sommes inspirés de celle de LAI (276) qui est déjà une adaptation de la méthode de GHOSH (163):l'animal anesthésié est attaché

---

* Nembutal N.D. (laboratoires ABBOTT).

dorsalement sur une planche d'opération, la zone cutanée ventrale est épilée et on pratique une incision abdominale de 2 ou 3 cm au dessous de la plaque sternale; on retire avec précaution le duodénum et on passe un fil de lin au niveau du pylore et un autre 1 cm plus bas, en évitant toute lésion vasculaire ; on ligature le fil distal qui permet ainsi de "tenir" le duodénum et qui évitera l'exclusion des sucsintestinopancréatiques ; puis on pratique une courte incision à 3 ou 4 mm en aval du pylore et on fait passer un cathéter en polyéthylène ayant un diamètre extérieur de 2 mm, que l'on remonte dans l'estomac; à l'aide d'un repère sur ce cathéter on le place de façon à ce qu'il pénètre de 2 ou 3 mm dans l'estomac et on ligature au niveau du pylore. On passe ensuite un second cathéter d'un diamètre de 1 mm dans l'œsophage et au moyen d'un repère identique on le fait pénétrer dans l'estomac ; pour maintenir ce cathéter en place et pour éviter une remontée du liquide au cours de la perfusion on fait une ligature de l'œsophage au niveau de la canule trachéale. Ainsi le liquide de perfusion sera poussé dans ce cathéter œsophagien, baignera la muqueuse gastrique et sortira par le cathéter duodénal ; avant de refermer l'incision abdominale, on fait passer 50 ml de chlorure de sodium à 9 pour 1000 en perfusion d'une part pour bien nettoyer l'estomac et d'autre part pour s'assurer qu'il n'y a pas de pertes de liquide au niveau des ligatures. La suture est enfin pratiquée en plaçant 2 ou 3 points au niveau de la couche musculaire et 2 ou 3 agrafes sur le plan cutané en prenant soin de ne pas modifier la position du cathéter duodénal. Le cas échéant on place un cathéter dans l'une des deux veines jugulaires. L'opération dure 15 à 20 minutes, il n'y a aucun soin particulier post-opératoire si ce n'est de réchauffer l'animal pour maintenir constante la température corporelle.

Le choix du liquide de perfusion est évidemment important pour les mesures ultérieures que l'on désire réaliser. GHOSH (163, 164) et d'autres auteurs (12, 33, 317) utilisent de la soude N/4000 et enregistrent les variations de pH du fluide après son passage dans l'estomac, mais il a été proposé d'autres liquides de perfusion ; ainsi ROSENOER (392) utilise un tampon citrate-phosphate de pH 7,3 de même que BENNET et HOGBIN (47) et DEBRAY et coll. (114) mais il semble qu'une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1000 et à un pH compris entre 5 et 5,5 soit préférable(47, 276) et c'est cette solution que nous avons retenue, comme liquide de perfusion.

Nous avons enfin recherché la vitesse d'écoulement qui donnait les résultats les plus cohérents. GHOSH (163) perfuse à la vitesse de 1 à 2 ml par minute, BERTACCINI et coll. (52) 1,2 ml par minute, BARRETT et coll. (33) 1 ml par minute, LAI (276) 0,7 ml par minute. Dans notre cas, nous avons opté pour une vitesse de 0,2 ml par minute et les prélèvements étaient faits par période de 15 minutes sur un collecteur de fractions ; cette vitesse est donc inférieure à celles qui sont généralement utilisées et il se pourrait qu'une quantité plus forte d'acide présent dans l'estomac à cause de la lenteur d'écoulement, provoque ici un certain blocage de la libération de gastrine endogène ; en fait cette vitesse lente a été choisie pour des raisons pratiques et matérielles mais nous

avons pu vérifier au cours de nombreux essais préliminaires que ces conditions expérimentales n'entraînent pas de modifications sécrétoires essentielles par rapport aux résultats publiés précédemment. D'un point de vue technique, le liquide était poussé par un perfuseur BRAUN et maintenu à une température constante de 22-24°C.

De cette manière l'expérience peut durer au moins huit heures et l'animal peut être son propre témoin ; en effet, on peut en théorie injecter successivement différents produits qui stimulent ou inhibent la sécrétion qui revient vite à son niveau basal; ceci est un grand avantage parce que si la sécrétion de base est relativement stable pour un certain animal, elle varie beaucoup d'un rat à l'autre. Lorsque nous avons fait ainsi plusieurs traitements sur le même animal, nous avons fait l'injection suivante au moins deux heures après une sécrétion de base régulière pour éviter toutes interactions possibles entre les substances étudiées.

Une étude sécrétoire de cette méthode est présentée pages 40 à 43.

B. Les méthodes " in vitro "

1°- Travaux antérieurs.

C'est DELRUE (116) qui a, le premier, fait usage de muqueuses gastriques isolées et de nombreux auteurs ont utilisé des muqueuses de Crapaud ou de Grenouille pour étudier les phénomènes de transport à travers la membrane. La méthode employée avec ces animaux est peu utilisable chez le Rat où la couche musculaire est quantitativement beaucoup plus importante ; cependant HANDCHUMACHER et VANE (196) ont profité de cette propriété de la paroi gastrique du Rat pour étudier l'effet de certaines drogues sur les contractions musculaires. En général on a adapté chez le Rat des techniques mises au point sur des animaux comme le Chien ou le Chat, mais la taille de l'estomac de Rat implique quelques modifications nécessaires à l'obtention d'une sécrétion continue normale et mesurable; certains auteurs préconisent l'utilisation de portions de muqueuses (419), d'autres emploient l'estomac entier (120); des études sécrétoires réalisées par TOOVEY et coll. (450) sur des lambeaux de muqueuses glandulaires transplantés à côté de la grande courbure n'ont montré qu'une faible activité sécrétrice (428). C'est pour cette raison que DIKSTEIN et SULMAN (120) ont proposé une méthode d'organe entier isolé, utilisée ces dernières années pour des études de la sécrétion gastrique (39, 156) tandis que CUMMINS et VAUGHAN (97) emploient des fragments de muqueuse pour des études de la sécrétion ou de l'activité bio-électrique.

2°- Travaux personnels.

Dans notre étude nous avons utilisé la technique de DIKSTEIN et SULMAN (120) que nous avons modifiée ; des rats Wistar , mâles, adultes, d'un poids moyen de 280-300 g, au jeûne depuis la veille sont décapités puis l'estomac est rapidement prélevé ; le cardia et le pylore sont liés, le rumen est ouvert et l'estomac est retourné à l'aide d'un agitateur à bout rodé (figure n° 2). L'estomac,lavé avec une solution de NaCl à 9 pour 1000 glacé, est ligaturé au niveau du rumen et 3 ml de Ringer sont injectés dans la poche stomacale retournée; cette préparation est placée dans un entonnoir de 30 ml à plaques de verre frité dont le diamètre des porosités est compris entre 5 et 15 microns ; on ajoute 10 ml de milieu d'incubation qui peut contenir la drogue étudiée puis on place l'ensemble dans un bain marie à 37°C.

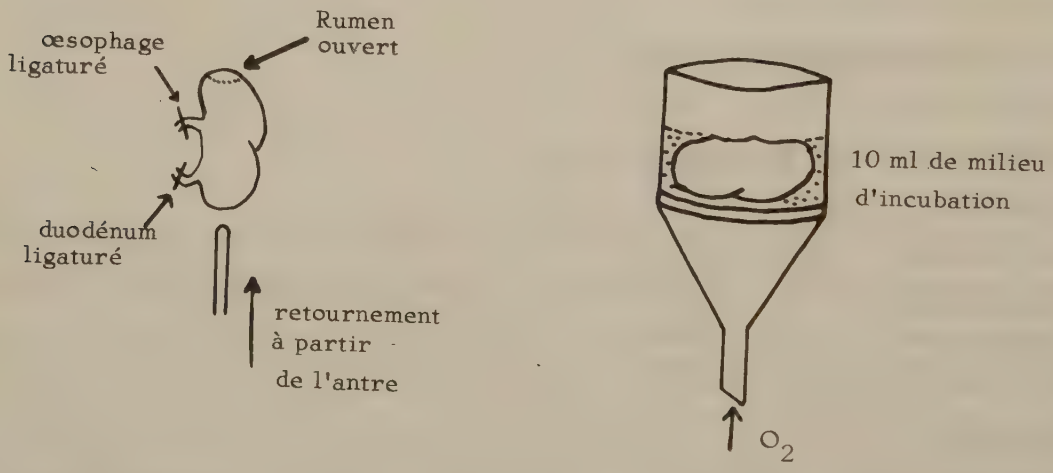


FIGURE N°2 - Préparation technique d'un estomac retourné de rat.

L'oxygène arrive par bulles à travers les pores du filtre sur la muqueuse de l'estomac; et on empêche la formation de mousse en ajoutant 1 goutte d'antimousse (Rhodorsil 426, Rhône-Poulenc) dans 1 litre de milieu d'incubation. Sur une telle préparation on peut soit mesurer l'évolution du pH dans le temps soit titrer l'acidité libre, l'acidité totale et même la pepsine à la fin de l'expérience qui peut durer deux heures.

Dans un premier travail nous avons recherché le milieu le plus favorable à une augmentation de l'acidité ; en effet DIKSTEIN et SULMAN (120) ont observé que la diminution du pH pouvait varier selon la composition de la solution d'incubation.

TABLEAU N° 3

Etudes sécrétoires de l'estomac isolé en présence de différents milieux d'incubation.

N°	COMPOSITION DU MILIEU	Osmolarité mOsm/l	EVOLUTION du pH				VARIATIONS de pH		
			30 mn	60 mn	90 mn	120 mn	0-120	30-120	60-120
1	NaCl 9 p. 1000	308	4,80	3,70	3,30	3,20	3,80	1,60	0,50
2	Ringer	324	5,05	4,45	4,20	4,20	2,80	0,85	0,25
3	Glucose 54 g/l	300	6,80	6,50	5,95	5,40	1,60	1,40	1,10
4	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM	280	6,20	5,80	5,60	5,50	1,50	0,70	0,30
5	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM	292	5,50	4,60	4,30	4,10	2,90	1,40	0,50
6	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2 mM	298	6,10	5,10	3,85	3,25	3,75	2,85	1,85
7	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2mM + $Ca\ Cl_2$ 2mM	304	6,30	6,20	5,90	5,50	1,50	0,80	0,70
8	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2mM + $CO_3H\ Na$ 2 mM	302	7,00	6,90	6,80	6,55	0,45	0,45	0,35
9	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2mM + $Na_2\ H\ PO_4$ 2mM	304	6,30	4,55	3,60	3,20	3,80	3,10	1,35
10	Glucose 160 mM + NaCl 200 mM	560	6,20	5,60	5,30	5,30	1,70	0,90	0,30
11	Glucose 160 mM + NaCl 200 + KCl 12 mM	584	5,30	4,70	4,35	4,10	2,90	1,20	0,60
12	Glucose 40 mM + NaCl 50 mM	140	6,70	6,30	5,70	5,25	1,75	1,45	1,05
13	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + $MgCl_2$ 2 mM	286	6,85	6,60	6,60	6,25	0,75	0,60	0,35
14	Glucose 80 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2 mM	98	7,00	6,75	6,55	6,15	0,85	0,85	0,60
15	NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2 mM	218	6,80	6,35	6,20	5,85	1,15	0,95	0,50
16	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 4 mM	304	6,55	6,00	4,65	4,55	2,45	2,00	1,45
17	Glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 1 mM	295	6,54	6,10	5,70	4,75	2,25	1,70	1,35

Nous avons donc étudié un certain nombre de milieux d'incubation possibles et mesuré le pH avec un pH mètre au bout de 30,60,90 et 120 minutes; les solutions utilisées ont été ajustées à pH 7,0 au temps zéro et chaque milieu a été testé sur un minimum de trois estomacs isolés ; pour des raisons pratiques la concentration osmolaire a été calculée à partir de la molarité et de l'ionisation de chaque constituant du mélange bien qu'il ait été préférable de la déterminer à partir de l'abaissement du point de congélation.

Nous pouvons voir sur le tableau n° 3 que l'isotonie du milieu d'incubation n'est pas une condition suffisante pour un bon fonctionnement de l'estomac comme l'ont montré quelques auteurs sur la muqueuse gastrique d'animaux d'autres espèces (9) : ainsi la diminution du pH est-elle différente selon que l'on utilise le chlorure de sodium et le glucose à la même osmolarité (milieux 1 et 3) mais l'hypotonicité (milieux 12,14 et 15) et l'hypertonicité (milieux 10 et 11) ne donnent pas des résultats très satisfaisants. L'addition de Calcium (milieux 2 et 7) ou de bicarbonate de sodium (milieu 8) n'est pas justifiée ici comme l'ont observé également FORTE et NAUSS (146) avec une muqueuse gastrique de Crapaud ; par contre la présence de potassium et de magnésium est nécessaire (milieux 5 et 6) comme l'ont noté DIKSTEIN et SULMAN (120) avec cette préparation ainsi que BAUME et NICHOLLS (39) et LINK et OTTENJANN (300) dans des circonstance plus ou moins analogues. La concentration de chlorure de potassium de 6 mM (milieux 5,6,11) et celle de chlorure de magnésium de 2 mM (milieux 6,16,17) se sont montrées les plus efficaces, tandis que le phosphate disodique à la concentration de 2 mM ne modifie pas la sécrétion acide totale (milieu 9) ; en définitive, nous avons choisi pour notre travail le milieu 6 qui a les constituants suivants : glucose 80 mM, NaCl 100 mM, KCl 6 mM, $MgCl_2$ 2 mM ; ce milieu dont la concentration osmolaire est 298 m Osm par litre, peut être considéré comme isotonique et il favorise une diminution régulière du pH jusqu'à 3,25 ; il faut noter que nous n'avons pas retenu le chlorure de sodium à 9 pour 1000 (milieu 1) bien que le pH soit légèrement plus acide au bout de 2 heures ; mais avec ce milieu d'incubation la plus grande partie de cette chute de pH est pratiquement réalisée en une heure alors qu'avec le milieu 6 le pH diminue d'une manière à peu près constante pendant deux heures

II - TECHNIQUES CHIMIQUES.

Si, comme nous l'avons vu précédemment, les techniques de recueil du suc sont difficiles et discutées chez le Rat, l'analyse des constituants de la sécrétion gastrique ne pose pas de problèmes très complexes ; les mesures de l'acidité et de l'activité pepsique sont largement utilisées mais certains auteurs étudient également la concentration de chlore, de sodium et de potassium ; pour notre part nous avons recherché uniquement les variations des deux principaux constituants,

c'est-à-dire l'acidité et la pepsine, et dans certains cas les modifications de glucosamine et d'acide lactique.

A. Mesure de l'acidité du suc gastrique.

Elle consiste en une simple titration avec de la soude, réalisée à deux pH différents pour distinguer ce que l'on a coutume de nommer l'acidité libre et l'acidité totale. Sur une prise aliquote convenable, on mesure la quantité de soude de titre connu , nécessaire pour obtenir un pH de 3,4 - 3,5 ou le virage du réactif Topfer (solution alcoolique à 0,5 pour 100 de diméthylaminoazobenzène) du rouge franc au dessous de pH 3,0 à l'orangé à partir de pH 3,5. Ceci représente l'acidité libre; en poursuivant la titration sur le même échantillon jusqu'à pH 8,5 ou le virage de la phénolphtaléine on obtient l'acidité totale.

La différence entre l'acidité libre et l'acidité totale représente la quantité d'acide chlorhydrique combiné à la mucine sous forme de chlorhydrate de mucine, l'acidité propre à la mucine et les acides organiques éventuellement présents. Cette acidité différentielle a d'ailleurs été utilisée pour déterminer le pouvoir tampon (279).

Il faut noter que la mesure du pH ou l'emploi des indicateurs colorés donnent évidemment les mêmes résultats mais la deuxième méthode demande une certaine habitude pour apprécier les virages ; les résultats sont exprimés en milli-équivalents par litre (m Eq. par l.) ou en micro-équivalents par litre (µ Eq. par l.) .

B. Dosage de la pepsine.

1°- Travaux antérieurs.

La pepsine pouvant agir sur une grande variété de substrats, on dispose de nombreuses méthodes pour mesurer son activité. Sauf en ce qui concerne les dosages immunochimiques (216) ou électrophorétiques (83) et l'utilisation des substrats synthétiques (26, 45) HIRSCHOWITZ (211) note que ces techniques sont empiriques. Par ailleurs, certains auteurs déterminent le pepsinogène urinaire comme indice de l'activité pepsique de l'estomac (470), de la même manière que SAKSENA et NARAYANA (401) utilisent le chlore urinaire comme index de l'acidité libre gastrique. Ce genre de méthode ne se justifie pas dans notre étude car nous disposons de suc gastrique.

La plupart des substrats employés (84) dans les techniques de dosage de la pepsine sont des protéines et parmi les plus utilisées on peut citer l'hémoglobine (18), les protéines plasmatiques

ou sériques (224 , 456), la caséine du lait (474), l'albumine de l'œuf (18), la sérum albumine à l'iode radioactif (2) ou la gélatine (356).

A partir de ces substrats, de nombreuses adaptations ont été réalisées pour estimer l'activité pepsique ; on peut considérer qu'il existe globalement trois types de méthodes :

- Il y a d'abord celles qui mesurent l'apparition des produits d'hydrolyse du substrat ; dans la méthode de ANSON et MIRSKY (18) une solution d'hémoglobine acidifiée est mise en présence de l'enzyme pendant une période déterminée ; la réaction est arrêtée en ajoutant de l'acide trichloracétique et après une filtration ou une centrifugation, la tyrosine ou le tryptophane libérés sont soit mesurés colorimétriquement à 650 mμ après action du réactif phospho-tungsto-molydbique de FOLIN et CIOCALTEU (143) soit déterminées à 280 mμ. Dans ces conditions les valeurs obtenues sont comparées à une gamme de tyrosine ou de tryptophane de 100 à 2000 μg par ml. C'est une méthode très employée et qui a été souvent modifiée (454) pour l'adapter au dosage de l'uropepsine (333) de la pepsine du suc gastrique humain (64) ou animal et de la pepsine sérique (80) ; cette technique a été miniaturisée (453) et automatisée (462).

- Un deuxième type de méthode comprend celles qui sont basées sur la disparition du substrat ; elles sont actuellement moins utilisées que les précédentes ; le substrat sur lequel agit la pepsine peut être le blanc d'œuf bouilli ou la fibrine (385) et les modifications du substrat sont estimées par néphélométrie (43, 162).

-Les méthodes d'un troisième groupe reposent sur un changement des propriétés physiques du substrat , c'est-à-dire en général sur la mesure d'une floculation ou d'une coagulation de la protéine. On utilise le plus souvent comme substrat le lait frais homogénéisé ou la poudre de lait écrémé (87) .

2°- Méthode utilisée.

Nous avons pour notre travail utilisé une technique du 3 e groupe qui consiste à mesurer le temps nécessaire à la coagulation des particules de caséine d'un lait frais homogénéisé. C'est la méthode de WEST et coll. (474) employée et modifiée par BATESON (36) et par de nombreux autres auteurs (14 , 226), que nous avons nous-mêmes adaptée à nos conditions expérimentales.

Dans un tube à essai on met 2 ml de tampon acétate pH 4,9 , 1 ml d'eau distillée et 1 ml de solution à tester diluée convenablement. On ajoute 1 ml d'un mélange en partie égale de lait frais homogénéisé et de tampon acétate et on mesure le temps nécessaire pour voir apparaître des particules

coagulées le long du tube. Le dosage se fait à une température de 13°C dans le but de ralentir la réaction enzymatique et chaque essai est réalisé en double ; il a été noté que si le temps de coagulation est supérieur à 40 secondes, l'erreur expérimentale est de moins de 3 pour 100. BATESON (36) a observé que les prises aliquotes de lait frais homogénéisé n'ont pas une concentration de caséine significativement variable et que la température exerce un effet marqué sur la vitesse de précipitation. Les résultats sont comparés à une solution acide de pepsine de titre 200 (Touzart et Matignon) c'est-à-dire une pepsine qui protéolyse cinquante fois son poids de fibrine sèche, ou deux cents fois son poids de fibrine essorée fraîche (Codex). La solution utilisée contenait 100 µg de cette pepsine par ml.

Nous avons établi dans nos conditions une courbe étalon de pepsine et nous avons noté que cette courbe suit une fonction logarithmique. En transformant en logarithme les valeurs réelles de concentration et celles du temps de précipitation portées sur le tableau n° 4 nous avons calculé la droite tracée sur la figure n° 3 dont l'équation est la suivante :

$$\log T = -0,73 \log C + 3,55 \qquad (I)$$

où C représente la concentration en pepsine dans le milieu

et où T représente le temps de précipitation correspondant.

Or nous avons remarqué à la suite de BATESON (36) que le temps de précipitation de l'étalon varie selon de nombreux facteurs comme la température ou le pH donc certains peuvent ne pas être rigoureusement identiques d'une expérience à l'autre ; ainsi le terme (+ 3, 55) de l'équation (I) n'est pas constant pour chaque dosage mais le terme constant est la différence entre le logarithme du temps de précipitation de l'essai et le logarithme du temps de précipitation de l'étalon, compte tenu de la pente qui donne l'inclinaison de la courbe ; l'équation générale est alors de la forme :

$$\log T = a \log C \qquad (II)$$

que l'on peut écrire de la manière suivante :

$$\log T_E - \log T_S = a (\log C_E - \log C_S) \qquad (III)$$

où T_E représente le temps de précipitation de l'essai

T_S représente le temps de précipitation de l'étalon

a représente la pente

TABLEAU N° 4

Valeurs expérimentales observées et transformations logarithmiques effectuées pour l'établissement d'une courbe étalon du dosage de pepsine

N°s des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Concentration en pepsine dans le milieu (en µg de pepsine t.200) C	31,2	46,8	62,5	93,7	125,0	140,6	187,5	250,0	300,0	425;0	500,0
Temps de précipitation correspondant (en secondes) T	296	206	173	126	103	94	80	59	53	44	38
Log C x	I, 494	1, 670	1, 796	1,972	2,097	2, 148	2,272	2,398	2,477	2,628	2,699
Log T y	2,472	2,314	2, 238	2,100	2, 013	1,973	1,903	1,771	1,724	1,643	1,580

Comme on peut le voir sur la figure n° 3, la variation de x en fonction de y est linéaire et cette linéarité est du type $y = ax + b$.

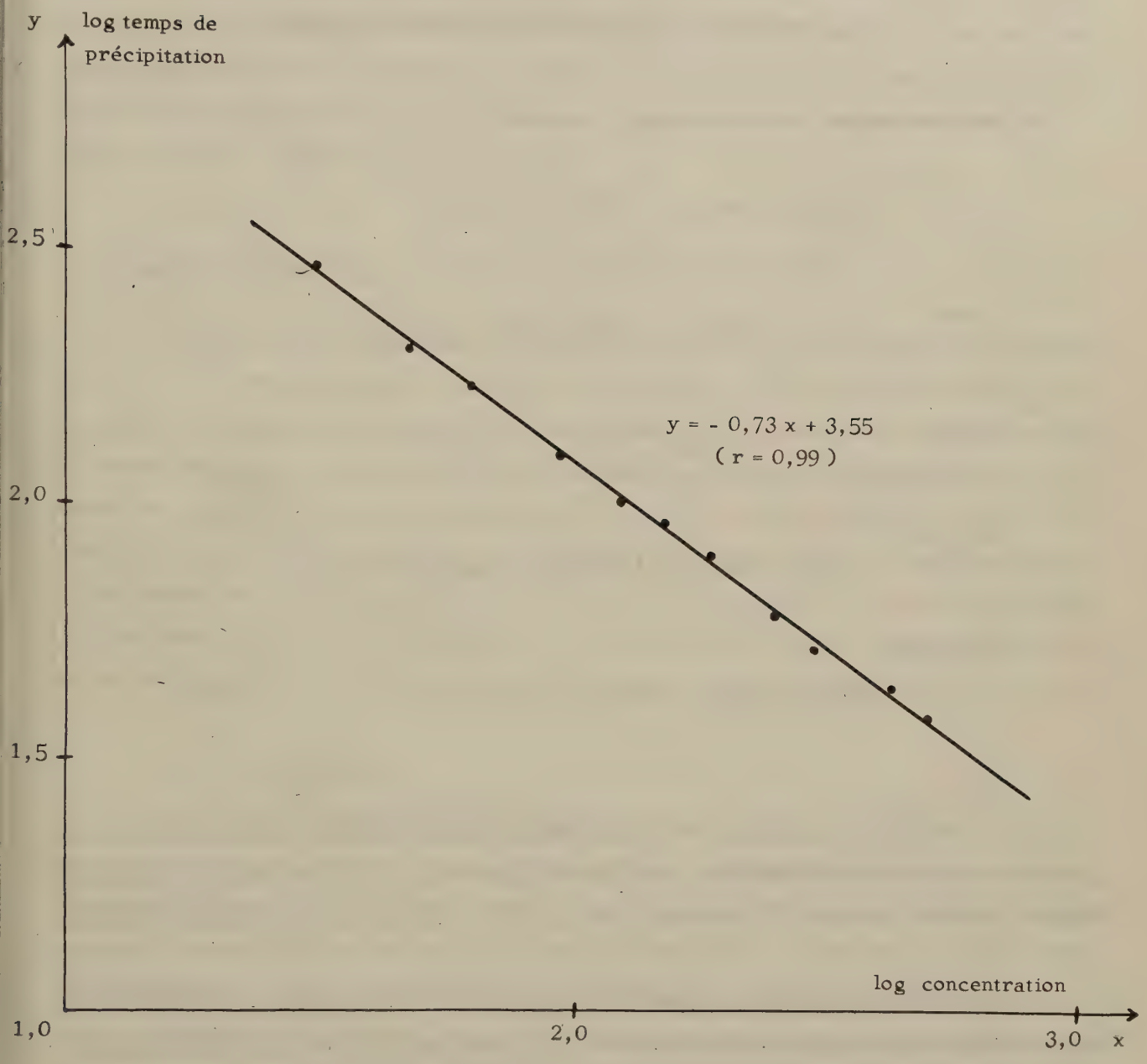


FIGURE N° 3 - Courbe étalon du dosage de pepsine illustrant le tableau n° 4

C_E représente la concentration en pepsine de l'essai

C_S représente la concentration en pepsine de l'étalon

Pour rechercher la valeur de $\log C_E$ on écrit :

$$\log C_E - \log C_S = \frac{\log T_E - \log T_S}{a} \qquad (IV)$$

d'où

$$\log C_E = \log C_S + (\log T_E - \log T_S) \frac{1}{a} \qquad (V)$$

mais

$$a = -0,73 \text{ donc } \frac{1}{a} \neq -1,4$$

on a donc

$$\log C_E = \log C_S + (\log T_E - \log T_S) - 1,4 \qquad (VI)$$

ou encore

$$\log C_E = \log C_S - (\log T_E - \log T_S)\ 1,4 \qquad (VII)$$

A partir de cette équation (VII) nous avons calculé le logarithme de la concentration en essai et nous avons ensuite transformé cette valeur logarithmique en valeur réelle de pepsine dans l'essai. Dans ces conditions le calcul est rapide et ne nécessite qu'un seul étalon par expérience.

Comme pour de nombreuses techniques employées , il faut noter que cette méthode n'est pas spécifique du pepsinogène et de la pepsine (211) mais dose l'activité protéolytique globale du suc gastrique, ce qui est très souvent confondu chez le mammifère adulte.

Cette méthode a été choisie à cause des avantages qu'elles présentaient pour notre travail: elle est en effet précise (erreur inférieure à 3 pour 100), elle ne nécessite aucun appareillage compliqué, elle est rapide (près de 80 mesures en une heure) elle est fidèle car les résultats sont très reproductibles et elle permet de mesurer de faibles activités enzymatiques.

Un détail technique a cependant souvent détourné certains auteurs de cette méthode car le début de la précipitation de la caséine peut être difficile à estimer par un expérimentateur qui n'est

pas familiarisé avec le dosage ; en fait avec un minimum d'habitude, l'erreur personnelle dans l'appréciation de la coagulation est tout à fait infime et les valeurs des doubles que l'on obtient sont presque toujours exactement égales. Par ailleurs la sensibilité de cette réaction est exceptionnelle car moins il y a de pepsine, plus est long le temps nécessaire pour voir apparaître la précipitation, si bien qu'en jouant sur les dilutions, on peut mesurer des quantités très faibles de pepsine avec une très minime marge d'erreur.

III - ETUDE CRITIQUE DES TECHNIQUES OPERATOIRES UTILISEES.

Avant d'étudier les conditions de l'hypersécrétion de l'estomac provoquée par l'éthanol chez le Rat au moyen des méthodes que nous venons de décrire, nous avons pensé utile d'établir entre elles une comparaison sécrétoire et posséder ainsi une indication de la limite d'interprétation de leurs résultats. Nous avons étudié dans ces conditions un certain nombre de techniques de recueil de la sécrétion gastrique susceptibles d'être utilisées dans notre étude ; " a priori " nous avons choisi des méthodes qui permettent de mesurer sur la même sécrétion l'acidité et la pepsine et nous avons ainsi éliminé la méthode des repas-tests (449) par laquelle on ne peut pas mesurer l'activité protéolytique ; nous avons donc analysé chez quelques rats la sécrétion gastrique recueillie par des fistules chroniques, des poches, la ligature du pylore, la perfusion ou l'estomac isolé.

A. Les fistules.

Nous n'avons réalisé des fistules chroniques selon la méthode de IVY et coll. (230) que sur cinq rats et nous n'avons pas obtenu de résultats très encourageants ; la fistule en effet est fréquemment obstruée par des aliments bien que l'on puisse facilement éviter cet inconvénient soit en lavant l'estomac avec une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1000 soit en mettant l'animal au jeûne pendant un temps suffisant avant l'expérimentation. Les principaux obstacles à cette méthode sont d'une part qu'on ne recueille pas toute la sécrétion dont une partie s'échappe par le pylore, d'autre part que l'animal doit être anesthésié. Pour pallier cela, nous avons employé la méthode de BONFILS et coll. (61) et nous avons retrouvé dans l'ensemble, les résultats de ces auteurs chez des animaux porteurs de la fistule duodénale :

- volume de sécrétion (en 6 heures) : 3,25 $\pm$ 0,45 ml
- acidité libre : 40,9 $\pm$ 10,0 m Eq/l
- acidité totale : 89,4 $\pm$ 13,3 m Eq/l
- activité protéolytique : 50,7 $\pm$ 4,7 mg de pepsine (t.200)/ml de suc

Nous avons cependant peu utilisé cette méthode pour des raisons pratiques parce que la contention plus ou moins stricte mais nécessaire rend difficile l'injection intraveineuse de solution alcoolique ; cet inconvénient n'existe pas avec le rat de SHAY car l'injection peut se faire dans la veine du pénis lorsque l'animal est encore sous l'anesthésie opératoire.

B. Les poches.

Selon la méthode d'ALPHIN et LIN (7) nous avons réalisé des poches innervées gastriques sur 15 rats que nous avons gardé plusieurs mois ; le volume sécrétoire basal est de 0,13 ml ± 0,05 par heure et le pH varie de 1 à 3 chez l'animal à jeun. La difficulté de l'opération et la faible quantité de sécrétion recueillie nous ont fait abandonner cette technique qui ne pouvait pas être utilisée dans nos conditions d'une manière intensive.

C. La ligature du pylore.

Pour évaluer dans un premier temps la valeur de cette méthode, nous avons pratiqué une ligature du pylore selon la méthode de SHAY , décrite pages 21 et 22,chez 20 rats Wistar mâles pesant entre 300 et 350 g et nous avons mesuré la sécrétion quatre heures après l'opération. La quantité de suc recueilli (6,43 ± 0,59 ml) nous a permis de déterminer l'acidité libre, l'acidité totale et l'activité protéolytique selon les techniques décrites précédemment.

Dans le tableau n°5 nous avons porté les résultats obtenus que nous avons ramenés à 1 heure et au poids de l'animal. Le volume de la sécrétion est relativement stable comme l'indique la valeur de l'erreur moyenne,inférieure à 10 pour 100 de la valeur moyenne,et le fait d'indiquer les valeurs en ml par heure ou en ml par heure et par 100 g d'animal ne modifie pas la variation des écarts. On peut faire la même remarque sur les résultats de l'acidité libre (65,70 ± 4,00 m Eq par l) de l'acidité totale (98,82 ± 3,40 m Eq par l) et de l'activité protéolytique (15,93 ± 0,79 mg de pepsine t.200 par ml). Ceci nous a guidé pour exprimer les résultats obtenus par cette méthode en m Eq par l pour l'acidité et en mg de pepsine par ml comme la grande majorité des auteurs qui ont utilisé cette méthode.

Nous avons également défini la corrélation entre l'acidité totale x et la pepsine y (301, 413) de la sécrétion obtenue mais nous n'avons pas effectué ces calculs entre l'acidité libre et la pepsine car il est classiquement admis que l'acidité libre accompagne l'acidité totale sauf dans les rares cas où les échantillons sont souillés par des aliments ou par du sang, mais de tels essais ont alors été tout simplement éliminés. Sur la figure n° 4 nous avons tracé la droite de régression obtenue avec les résultats exprimés en heures, sur la figure 5 celle obtenue avec les résultats exprimés en heure par 100 g de poids corporel. Le coefficient de corrélation r est sensiblement le même

TABLEAU N° 5

Sécrétions de l'estomac de SHAY pendant 4 heures et résultats rapportés soit à 1 heure de sécrétion, soit à 1 heure et à 100 g de poids de l'animal.

0 rats de 332,9 g ± 5,3		Volume de sécrétion ml	Acidité libre	Acidité totale	Activité protéolytique (en pepsine t.200)
Sécrétion en 4 heures		6,43 ± 0,59	65,70 mEq/l ± 4,00	98,82 m Eq/l ± 3,40	15,93 mg/ml ± 0,79
Sécrétion par heure	moyenne S m	1,61 ± 0,15	110,25 µ Eq/h ± 16,09	161,43 µ Eq/h ± 17,93	25,47 mg/h ± 2,25
	corrélation r			0,89	
	corrélation t			8,202	
	corrélation P			P<0,001	
	F			70,25 (1 p.100)	
	Equation de la droite			y =(0,11x ± 0,01)+6,87 ± 2,19	
Sécrétion par heure pour 100 g de poids corporel	moyenne S m	0,43 ± 0,04	33,92 µ Eq/h /100g ± 4,76	48,84 µ Eq/h /100 g ± 5,35	7,93 mg/h/100g ± 0,68
	corrélation r			0,88	
	corrélation t			7,778	
	corrélation P			P<0,001	
	F			60,29 (1 p.100)	
	Equation de la droite			y=(0,11x ± 0,01)+(2,10 ± 0,71)	

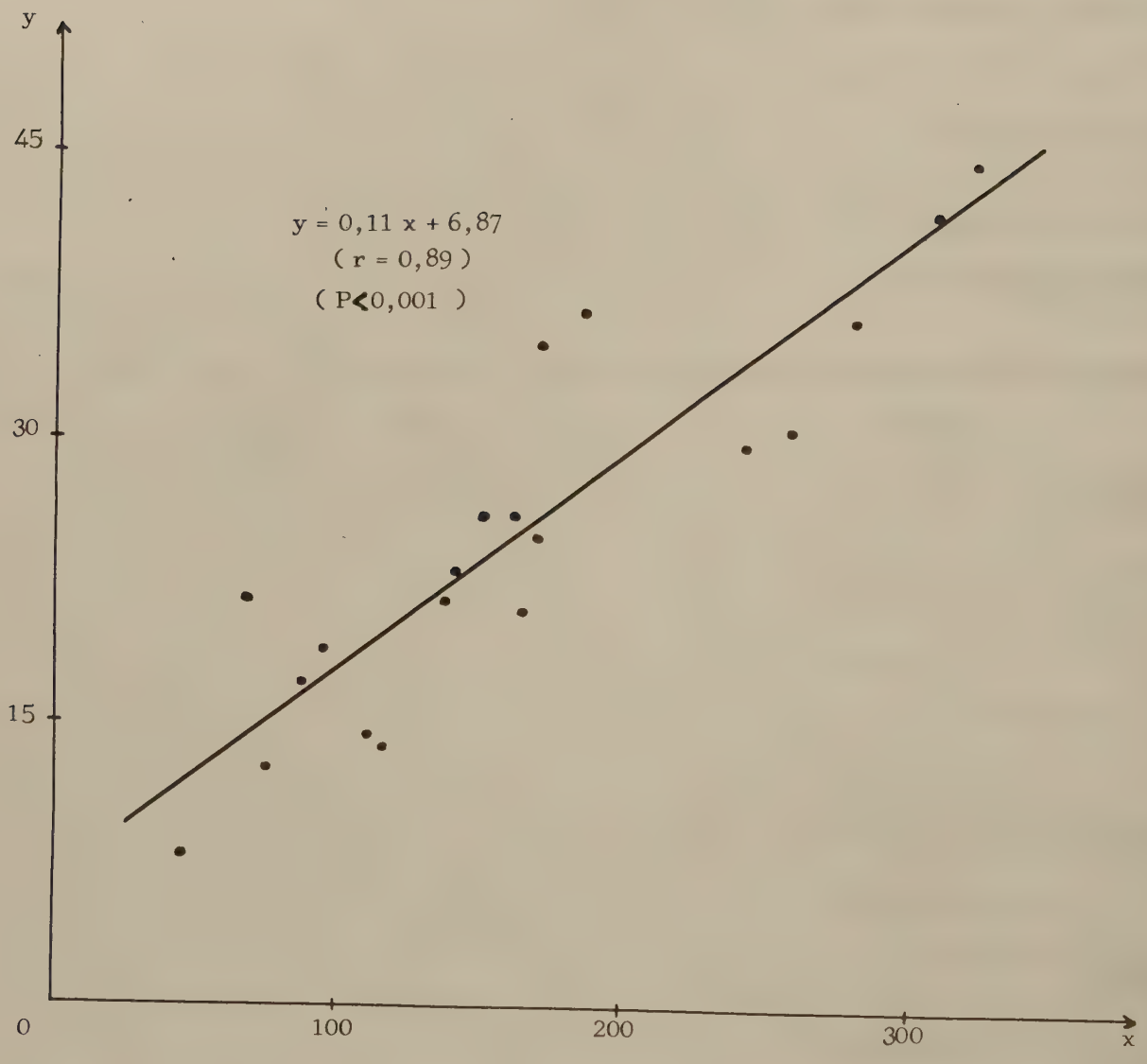


FIGURE N° 4 - Droite de régression obtenue à partir des résultats exprimés par heure de sécrétion de l'estomac de SHAY (voir tableau n° 5)

y = mg pepsine (t. 200) /h.

x = µ Eq HCl /h.

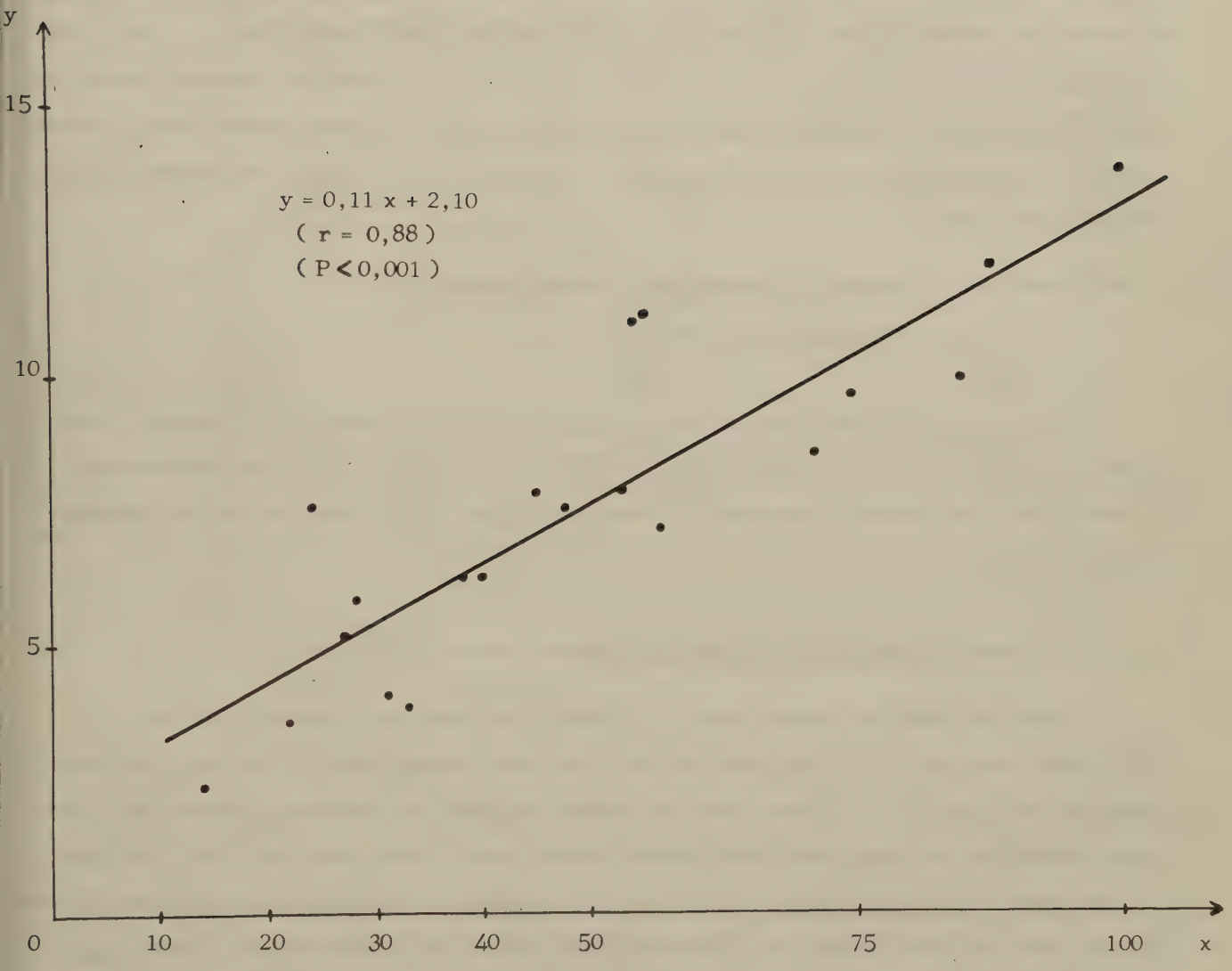


FIGURE N° 5 - Droite de régression obtenue à partir des résultats de la sécrétion de l'estomac de SHAY ; la sécrétion est rapportée à I heure et à 100 g de poids corporel. (voir tableau n° 5).

y = mg pepsine (t.200) /h / 100 g de poids corporel

x = μ Eq HCl / h / 100 g de poids corporel.

0,89 dans le premier cas, 0,88 dans le second cas et il est toujours hautement significatif (P< 0,001 de même que le test de F. Cela signifie qu'il y a une corrélation significative entre la pepsine et l'acidité totale c'est-à-dire par exemple que lorsque l'activité protéolytique est élevée dans un suc gastrique l'acidité est également forte et réciproquement. Le test de F qui est également significatif indique que cette corrélation suit une courbe linéaire ; ceci n'implique pas forcément la linéarité totale et absolue mais signifie seulement que la dispersion des points obtenus avec x et y est en régression d'allure linéaire ; dans nos conditions on ne peut pas confirmer mathématiquement la linéarité des droites de régression parce qu'on ne dispose pas de plusieurs valeurs de y pour les différentes valeurs de x . La linéarité impliquée dans le test de F indique une linéarité qui peut varier de deux façons :

- déviation par rapport à la droite tracée,
- variation résiduelle.

Dans ce test ces deux erreurs sont confondues et on ne fait donc pas la différence entre l'erreur propre (déviation par rapport à la droite) et l'erreur sur chaque valeur utilisée pour la droite, alors que le test de linéarité si on avait pu le faire, aurait distingué ces deux erreurs (413).

D. La perfusion de la cavité gastrique.

Selon la technique décrite pages 23,24 et25d'après celles de GHOSH (163) et de LAI (276) nous avons préparé 22 rats mâles Wistar d'un poids compris entre 300 et 350 g dont nous avons perfusé la cavité de l'estomac avec une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1000. Nous avons mesuré l'acidité totale ainsi que l'activité protéolytique et nous avons porté sur le tableau n° 6 les quantités d'acide et de pepsine produites en une heure pour 100 g de poids corporel. Comme pour les résultats de la ligature du pylore nous avons calculé le coefficient de corrélation r , la variance de la régression linéaire et nous avons tracé les droites correspondantes (figures n° 6 et n° 7) en utilisant cependant une échelle modifiée à cause de l'expression différente des valeurs sécrétoires entre les deux expériences.

Il faut remarquer d'ailleurs que la présentation des résultats de la perfusion gastrique varie beaucoup selon les auteurs. GHOSH et SCHILD (163) enregistrent simplement les variations du pH, tandis que MANTEGAZZA et PICCINI quantifient ces variations (317) ou calculent la sécrétion acide par heure (318) ; LAI (276) fait la moyenne de la sécrétion avant et après un traitement gastrinique pour estimer la réponse par rapport à la sécrétion acide basale; MOORE et coll.(341)

TABLEAU N°6

Différentes expressions des résultats de la sécrétion de l'estomac perfusé de rat .
(Sécrétions par heure et sécrétions par heure pour 100 g de poids corporel)

22 rats	Poids des rats en g.	Acidité totale µ Eq HCl/h	Pepsine mg(t.200) /h	Acidité totale µ Eq HCl/h/ 100 g de poids corporel	Pepsine mg(t.200)/h/ 100 g de poids corporel
Moyenne	329, 0 ± 11,6	6,21 ± 0,69	3,73 ± 0,42	1,86 ± 0,18	1,13 ± 0,13
Corrélation r		0, 62		0, 52	
Corrélation t		3,666		2, 721	
Corrélation P		P < 0,01		P < 0,05	
F		12, 75 (1 %)		7, 42 (1 %)	
Equation de la droite		y=(0,38 x±0,11)+(1,38 ± 0,66)		y=(0,37 x ±0,14)+(0,45 ± 0,25)	

déterminent sur des prélèvements réalisés chez l'Homme, la capacité sécrétoire de l'estomac et MAKHLOUF et coll. (315) ont calculé la corrélation entre l'acide et la pepsine. Lorsque l'on possède des données suffisantes et que l'on se trouve dans des conditions où cette dernière méthode est applicable, notamment en ce qui concerne les variables , la détermination de cette corrélation est certainement une des techniques mathématiques qui permet le mieux une interprétation correcte et rigoureuse des valeurs expérimentales.

Dans nos conditions de perfusion, l'estomac de Rat sécrète par heure 6,21 µ Eq d'HCl (acidité totale) et 3,73 mg de pepsine (titre 200) , ou bien 1,86 µ Eq d'HCl par heure et par 100 g de poids corporel. L'erreur moyenne est de l'ordre de 10 pour 100, ce qui paraît acceptable pour une expérimentation " in vivo " . Le cœfficient de corrélation (0,62 dans le premier cas et 0,52 dans le second cas) indique une corrélation significative (P<0,05) entre l'acidité totale et

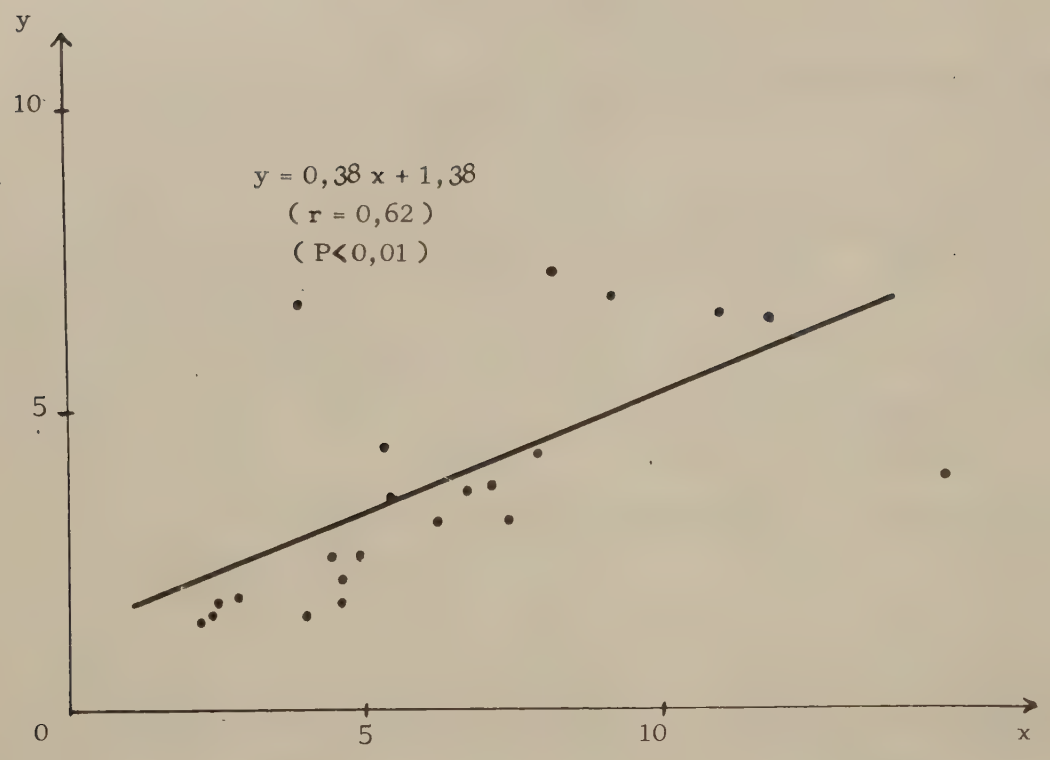


FIGURE N° 6 - Droite de régression obtenue à partir des résultats d'une heure de sécrétion de l'estomac perfusé.(voir tableau n° 6)
y = mg pepsine (t. 200)/ 1 heure
x = µ Eq HCl / 1 heure

l'activité protéolytique , corrélation qui suit une courbe linéaire.

En ce qui concerne la pente des droites de régression elle est sensiblement identique quelle que soit la méthode de calcul : 0,38 ± 0,11 pour une heure de perfusion et 0,37 ± 0,14 lorsque l'on ramène les valeurs à 100 g de poids corporel. On peut donc noter qu'il n'y a pas de nettes différences de signification selon le mode d'expression des résultats c'est-à-dire en d'autres termes que le poids de l'animal intervient peu, du moins quand on utilise un lot de rats homogènes ; dans ces conditions et pour nos résultats ultérieurs nous avons simplement ramené la sécrétion au temps et nous n'avons pas tenu compte du poids de l'animal.

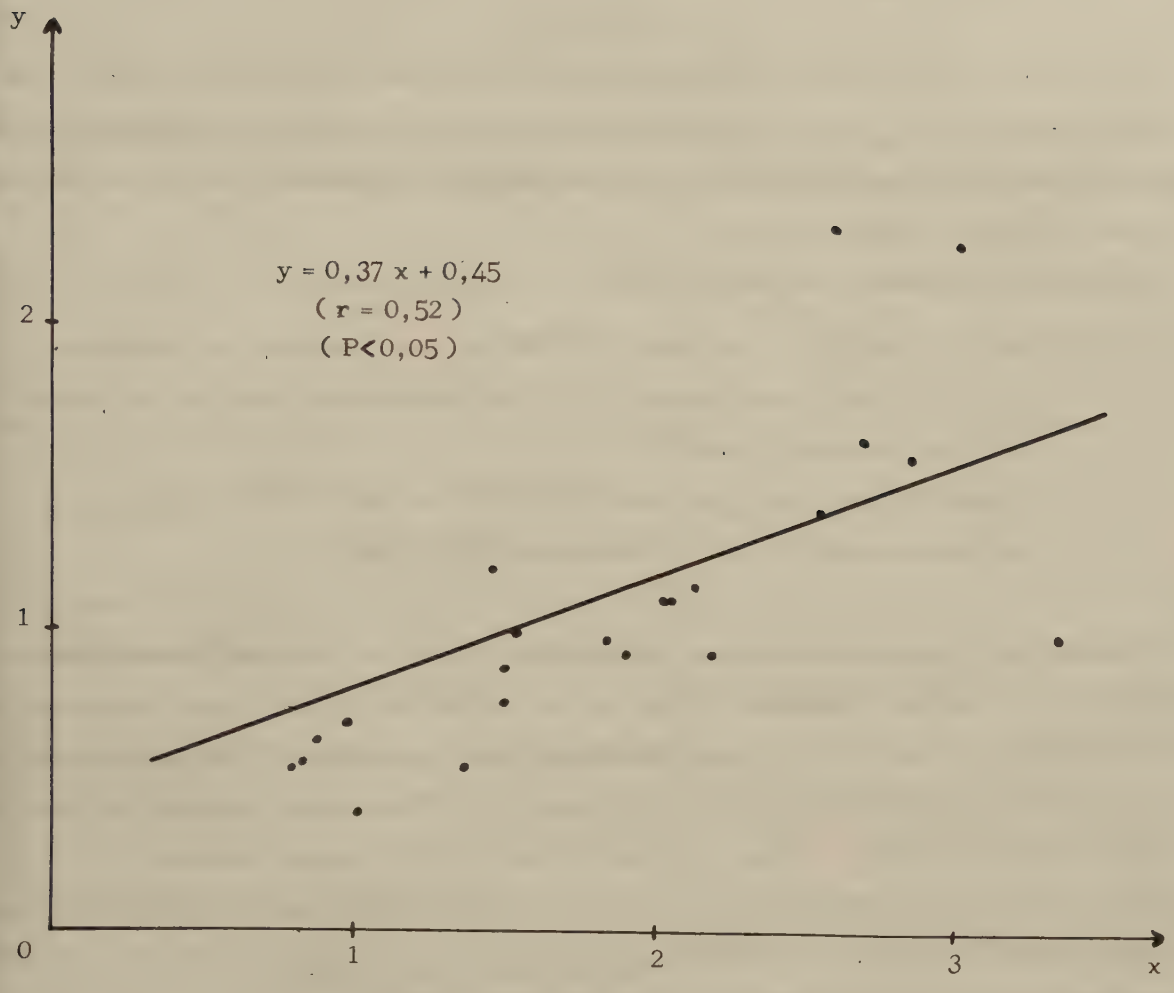


FIGURE N°7 - Droite de régression obtenue à partir des résultats de la sécrétion de l'estomac perfusé ; la sécrétion est rapportée à 1 heure et à 100 g de poids corporel. (voir tableau n° 6)

y = mg pepsine (t.200) / h / 100 g de poids corporel

x = μ Eq HCl / h / 100 g de poids corporel.

E. L'estomac isolé.

Nous avons testé cette méthode décrite pages 26, 27, 28, avec huit estomacs isolés de rats Wistar, mâles pesant 374,0 ± 11,2 g. Ces estomacs ont été placés dans 10 ml du milieu d'incubation oxygéné le plus favorable à une diminution de pH (voir tableau n° 3) qui contient : glucose 80 mM + NaCl 100 mM + KCl 6 mM + $MgCl_2$ 2 mM.

A la fin de l'expérience nous avons mesuré :

- le volume du milieu d'incubation à l'extérieur et à l'intérieur de l'estomac,
- l'acidité libre, l'acidité totale et l'activité protéolytique selon les techniques décrites ci-dessus, (pages 28 à 35) .
- l'acide lactique selon la méthode de BARKER et SUMMERSON (29),
- le glucose selon celle de FOLIN et MALMROS (144).

Dans nos conditions expérimentales, les variations du volume observées sont négligeables et le transfert d'eau n'est pas mesurable, si bien que les valeurs des constituants du milieu peuvent être exprimées soit en concentration soit par rapport au temps. Le tableau n° 7 indique les résultats obtenus que nous avons rapportés à la durée d'incubation, ou à 100 g de poids corporel par unité de temps. Nous pouvons noter que l'estomac isolé secrète 5,63 ± 0,47 µ Eq par heure ou 1,51 ± 0,12 µ Eq par heure et par 100 g d'animal en ce qui concerne l'acidité libre et que l'acidité totale produite par cette préparation atteint 10,06 ± 0,75 µ Eq par heure ou 2,70 ± 0,20 µ Eq par heure et par 100 g; ces valeurs varient peu d'un rat à l'autre alors que l'activité protéolytique subit de grandes fluctuations : 151,02 ± 41,75 µg de pepsine (t.200) par heure ou 40,78 ± 11,38 µg par heure et par 100 g ; c'est probablement pour cette raison que la corrélation entre l'acidité totale et la pepsine n'est pas ici significative ; il faut d'ailleurs remarquer que si le milieu d'incubation est favorable à une sécrétion acide grâce à la présence des divers ions et du glucose, il n'en est pas de même pour la pepsine ; l'activité protéolytique mesurée dans ces conditions représente simplement l'excrétion de l'enzyme par les cellules peptiques, enzyme qui ne peut pas être nouvellement formée au cours de l'incubation ; l'estomac ainsi préparé ne dispose pas en effet des éléments constitutifs nécessaires à l'élaboration des molécules de pepsinogène ou de pepsine ; en ce sens les résultats que nous avons obtenus concernant l'activité protéolytique de cette préparation ne sont sans doute pas très représentatifs des conditions physiologiques normales.

L'acide lactique et le glucose ont été dosés dans le but de déterminer un rapport éventuel entre la glycolyse et l'acidité du milieu ; nous pouvons voir sur le tableau n° 7 que l'acide lactique représente environ 10 pour 100 de la valeur de l'acidité totale ; il est normal que cette teneur soit

TABLEAU N° 7

Différentes expressions des résultats de la sécrétion de l'estomac isolé de rat.
(Sécrétions par heure et sécrétions par heure pour 100 g de poids corporel)

	Moyenne	Corrélation			Test de F
		r	t	P	
Acidité libre (µ Eq/h)	5,63 ± 0,47				
Acidité libre (µ Eq/h/100 g)	1,51 ± 0,12				
Acidité totale µ Eq / h	10,06 ± 0,75	0,56	1,653	N.S.	2,71 N.S.
Activité protéolytique µg / h (en pepsine t.200)	151,02 ± 41,75				
Acidité totale µ Eq / h / 100 g	2,70 ± 0,20	0,59	1,808	N.S.	3,28 N.S.
Activité protéolytique µg/h/100g	40,78 ± 11,38				
Acide lactique (µ Eq / h)	0,95 ± 0,14				
Acide lactique (µ Eq /h/100 g)	0,26 ± 0,04				

faible puisque la forte oxygénation du milieu doit normalement empêcher l'apparition des métabolites réduits tels que l'acide lactique; par ailleurs le dosage du glucose ne nous a pas permis d'observer une modification quelconque de sa teneur; on peut penser à ce sujet que l'utilisation possible de ce substrat pour la sécrétion acide n'est pas décelable ici pour deux raisons : soit que la muqueuse gastrique ait une réserve de glucose suffisante, soit que l'importante quantité de glucose dans le milieu masque sa consommation.

IV- DISCUSSION et CONCLUSION.

Parmi les techniques d'étude de la sécrétion gastrique chez le Rat nous avons donc principalement utilisé :

- deux méthodes " in vivo " : la ligature du pylore
  la perfusion de la cavité gastrique
- une méthode " in vitro " : l'estomac isolé.

Si l'on compare les valeurs concernant l'acidité, obtenues avec ces trois types de méthodes, on peut voir une certaine cohérence entre la perfusion et l'estomac isolé ; l'acidité totale mesurée à pH 8,5 ou par le virage de la phénolphtaléine est de 6,21 $\pm$ 0,69 μ Eq d'HCl par heure sécrétés par l'estomac perfusé, et de 10,06 $\pm$ 0,75 μ Eq par heure par l'estomac isolé;ceci se retrouve également si on rapporte les résultats à 100 g de poids corporel mais par contre l'estomac dont le pylore est ligaturé produit une sécrétion beaucoup plus acide : 161, 43 $\pm$ 17,93 μ Eq par heure; quant à la sécrétion de pepsine, elle est variable selon les techniques : 3,73 $\pm$ 0,42 mg par heure par l'estomac perfusé ; 0,15 $\pm$ 0,04 mg par heure par l'estomac isolé;25,47 $\pm$ 2,25 mg par heure par l'estomac au pylore lié. Il faut cependant remarquer que les différences sécrétoires d'activité protéolytique des diverses préparations sont relativement moins dispersées que celles de l'acidité; la corrélation significative entre la pepsine et l'acidité de la sécrétion gastrique du rat de SHAY et de GHOSH peut être une validation de ces techniques alors que l'estomac isolé ne serait pas, comme nous l'avons vu, une méthode indicatrice de la sécrétion de pepsine.

Ainsi l'utilisation de plusieurs méthodes d'étude est-elle indispensable à cause des différents avantages et inconvénients techniques dont quelques uns sont notés sur le tableau n° 8 .Les inconvénients majeurs sont l'anesthésie et les stress opératoires dans l'estomac perfusé de GHOSH, la distension gastrique et le stress opératoire dans l'estomac de SHAY, l'incohérence de la sécrétion de pepsine par l'estomac isolé ; à côté de ces inconvénients les techniques que nous avons choisies ont des avantages intéressants ; la perfusion de l'estomac permet d'étudier l'évolution des

TABLEAU N° 8

Comparaison de 3 méthodes d'étude de la sécrétion gastrique du rat.

	Estomac perfusé (GHOSH)	Estomac au pylore lié (SHAY)	Estomac isolé
Facilité de technique opératoire	+ •	+ •	+ •
Stress opératoire	+	+	0 •
Possibilité d'une étude cinétique sur le même animal	+ •	0	+ •
Mesure de volume sécrétoire	0	+ •	0
Mesure de l'acidité libre	0	+ •	+ •
Mesure de l'acidité totale	+ •	+ •	+ •
Mesure de l'activité protéolytique	+ •	+ •	±
Cohérence des résultats de l'acidité	+ •	+ •	+ •
Cohérence des résultats de la pepsine	+ •	+ •	0
Corrélation acide/ pepsine	+ •	+ •	0
Possibilité d'un effet de l'anesthésique	+	±	0 •
Irrigation sanguine de l'estomac	+	+	0
Distension gastrique	0 •	+	0 •

- Les points (•) indiquent les avantages de la technique.

sécrétions acide et peptique dans le temps, le rat de SHAY permet de mesurer le volume sécrétoire ainsi que les constituants du suc sur un grand nombre d'animaux et l'estomac isolé ne subit aucune variation due à des modifications individuelles du rat telles que l'anesthésie, le stress opératoire ou l'irrigation sanguine.

DEUXIEME PARTIE

HYPERSECRETION GASTRIQUE INDUITE PAR L'ETHANOL CHEZ LE RAT

INTRODUCTION

I- TECHNIQUES.

A. Ligature du pylore.

B. Perfusion de la cavité gastrique.

II- RESULTATS.

A. Ligature du pylore.

B. Perfusion de la cavité gastrique.

1°- Sécrétion acide.

2°- Sécrétion pepsique.

3°- Etude corrélative.

4°- Etat de l'estomac.

III- DISCUSSION ET CONCLUSION.

A. Ligature du pylore.

1°- Sécrétion.

2°- La muqueuse.

B. Perfusion de la cavité gastrique.

C. Absorption et diffusion de l'éthanol.

D. Flux sanguin et sécrétion acide.

DEUXIEME PARTIE

HYPERSECRETION GASTRIQUE INDUITE PAR L'ETHANOL CHEZ LE RAT

Avant d'étudier le mécanisme de l'action hypersécrétrice de l'alcool éthylique, le premier problème qui s'est posé a été de délimiter le phénomène lui-même car si l'effet de l'éthanol est en réalité connu depuis longtemps, les travaux de différents auteurs ne permettent pas toujours des comparaisons valables à cause de variations dans les conditions méthodologiques. Les premières expériences réalisées un peu systématiquement sont celles de CHITTENDEN et coll. (86) en 1898 : chez des chiens au pylore ligaturé, ces auteurs ont montré que la présence d'alcool dans l'estomac augmente considérablement le flux gastrique, l'acidité et le pouvoir protéolytique ; ils ont remarqué que cette action est également exercée par l'influence de l'alcool absorbé au niveau de l'intestin et n'agissant donc pas directement sur la muqueuse.

De nombreux auteurs, [parmi lesquels on peut citer par ordre chronologique FROUIN et MOLINIER (152), ORBELI (361), IVY et MAC ILVAIN (228), PETROVITCH et BOKANOWA (372), NEWMAN et MEHRTENS (349), HARMON et ANDREWS (202), KRUEGER et MAC INTOSH (275), FOSSATI (148), GRAY et BACHRACH (174), QUAGLIA et BELLOMO (376), ACHARYYA et coll. (3), WEISE et coll. (471) ainsi que MAITRYA (313),] ont repris ces travaux par la suite et ont précisé la réponse gastrique lorsque l'éthanol est administré par voies orale (202, 275), sanguine (148, 349, 372, 376), gastrointestinale (228, 361) ou rectale (275, 361). C'est ainsi que HARMON et ANDREWS (202) utilisaient l'alcool soit dans le " repas test ", soit pour corriger l'achlorhydrie présente au cours de périodes post-opératoires ; KRUEGER et MAC INTOSH (275) notaient que l'éthanol dilué stimule les glandes gastriques chez le sujet non conditionné, entraînant une augmentation du flux et de l'acidité gastrique mais une diminution de la pepsine, tandis que l'intoxication chronique provoque une exaltation du pouvoir protéolytique ; GRAY et BACHRACH (174) ont remarqué chez le Chien que la réponse sécrétoire de l'estomac à des solutions alcooliques n'était modifiée ni par l'atropine ni par les graisses.

En 1956, HIRSCHOWITZ et coll. (210) ont étudié chez l'Homme l'effet de l'alcool éthylique administré par voie intraveineuse et ont observé d'une part l'existence d'une relation entre la quantité injectée et la réponse, d'autre part la nécessité de l'intégrité du système parasympatique. WOODWARD et coll. (481, 483) ont montré que des solutions d'alcool dilué ne modifient pas,par contact direct,la sécrétion acide de poches gastriques chez le Chien ; par contre administré par voie veineuse,l'alcool est un puissant stimulant même en absence des mécanismes nerveux. Egalement, chez le Chien, IRVINE et coll. (225) ont observé que la dénervation de la muqueuse gastrique n'affecte pas la réponse sécrétoire due à l'alcool et WEISE et coll. (471) ont remarqué une relation entre la teneur en alcool du sang et la réponse sécrétoire de l'estomac, tandis que DAVES et coll. (107) ont noté que l'alcool appliqué localement à l'antre isolé ou injecté par voie intraveineuse est un bon stimulant de la sécrétion acide.

De plus, comme l'alcool éthylique est une substance chimique bien définie on l'a utilisé dans l'étude des mécanismes de la stimulation ou de l'inhibition antrale et il est intéressant de souligner cette action relativement spécifique de l'éthanol(358).

Par ailleurs ELWIN (135) a étudié en 1969 les variations de la réponse sécrétoire à une application antrale d'éthanol dans les poches gastriques de Chien et il a noté une relation entre la concentration d'alcool et la modification des composés de la sécrétion gastrique. Ce même auteur (134) a également observé chez le Chien que seuls l'éthanol et le n-propanol sont de puissants stimulants gastriques alors que le méthanol, l'isopropanol, le n-butanol, l' isobutanol, le butanol secondaire et le butanol tertiaire ont une faible action sur la sécrétion acide mais inhibent l'activité de la pepsine (TANG, 440). Ces résultats indiquent que l'effet hypersécréteur de l'éthanol et du n-propanol ne serait pas tellement dû à leurs propriétés physicochimiques comme la solubilité dans l'eau et les graisses, mais à leur configuration moléculaire.

En plus de son action sur les sécrétions d'acide, de pepsine et de mucine, il a été découvert que l'éthanol à des concentrations de l'ordre de 10 pour 100 peut agir sur d'autres fonctions gastriques : c'est ainsi que de nombreux auteurs ont étudié les effets de l'alcool sur la motilité de l'estomac (350) et la plupart ont montré que l'éthanol diminue l'activité motrice et augmente la durée d'évacuation chez le Rat (175, 303, 445), le Chien (170, 254, 403), le Chat (485) et l'Homme (30, 403, 417) mais HARICHAUX et MOLINE (200) ont noté une accélération de l'évacuation gastrique en présence d'alcool chez le Rat.

A la suite d'une intoxication alcoolique LOMBARDI et coll. (304) ont remarqué par ailleurs une variation de la composition de lipides et d'acides gras du suc humain et MAGNUSSEN (312) a souligné l'augmentation de l'absorption gastrique de certaines drogues,comme les barbituriques,chez le Rat.

On peut donc dire en résumé que l'augmentation de la sécrétion acide gastrique par l'éthanol est certaine mais le but de notre travail étant de rechercher le mécanisme de cette hypersécrétion nous avons pensé qu'il était indispensable d'étudier dans des conditions très précises le phénomène lui-même. C'est la raison pour laquelle nous avons étudié dans un premier temps les variations sécrétoires de l'estomac de Rat au cours du traitement alcoolique.

I - TECHNIQUES.

A. Ligature du pylore.

Nous avons utilisé 180 rats Wistar, mâles, d'un poids moyen de 400 g environ que nous avons mis au jeûne, anesthésiés et opérés dans les conditions décrites au chapitre précédent (pages 21, 22). Par voie intraveineuse nous avons, immédiatement après l'opération, injecté lentement l'alcool éthylique en solution à 50 pour 100 (V/V) dans du chlorure de sodium à 9 g pour 1000, à la dose de 0,5 g par Kg, 1 g par Kg et 2 g par Kg, les animaux témoins recevant un volume équivalent de chlorure de sodium à 9 g pour 1000. Les rats ont ensuite été sacrifiés 2 h 30, 5 h et 7 h 30 après la ligature du pylore de telle sorte que nous avons délimité ainsi 18 lots de rats. Pour chacune des trois doses d'éthanol administrées nous avons en effet 6 groupes d'animaux dont un groupe de témoins et un groupe de traités,à chacun des trois temps étudiés et nous avons utilisé environ 10 rats pour chaque groupe. En ce qui concerne la conduite de l'expérience nous avons toujours " apparié " les animaux, c'est-à-dire que nous avons chaque fois préparé ensemble,dans les mêmes conditions, un rat témoin et un rat traité.

Après le sacrifice des animaux nous avons recueilli le suc gastrique sur lequel nous avons mesuré : le volume, l'acidité libre, l'acidité totale, la pepsine, les hexosamines et l'éthanol. Le tissu gastrique a été pesé, observé pour noter la présence éventuelle de zones ulcéreuses, puis broyé dans l'acétone et traité plusieurs fois par de l'acétone, du toluène et de l'éther ; sur la poudre sèche délipidée ainsi obtenue nous avons dosé les hexosamines.

Les hexosamines des mucopolysaccharides du suc et du tissu gastrique, ont été mesurés selon la technique d' ELSON et MORGAN (132). Cette méthode pour laquelle il a été proposé de nombreuses modifications (58) est basée sur la réaction de PAULY et LUDWIG (367) : les osamines chauffées en milieu alcalin en présence d'acétylacétone forment des dérivés pyrroliques qui donnent une coloration rose avec le réactif d' EHRLICH (2,67 g de p-diméthylaminobenzaldéhyde pour 100 ml d'une solution V/V d'éthanol absolu et d'acide chlorhydrique R.P.). L'intensité de cette coloration est mesurée au spectrophotomètre à 530 mμ et comparée à un étalon contenant 25 μg par ml de glucosamine libre.

L'éthanol a été mesuré dans le suc gastrique par la méthode de WIDMARK (475) modifiée par GAILLARD (153). C'est un dosage par microdiffusion qui nécessite l'emploi de flacon spéciaux où l'échantillon à doser est placé dans une capsule au dessus d'un mélange sulfochromique bien défini ; les substances volatiles diffusent à 65°C dans ce mélange et l'excès de bichromate est dosé par titration iodométrique.

La présence d'ulcères a été notée après un examen macroscopique de la muqueuse et nous n'avons pas fait de différences entre les divers degrés d'ulcération (13). Nous avons simplement compté les animaux porteurs d'ulcères quelque soit la profondeur de l'atteinte des tissus.

B. Perfusion de la cavité gastrique.

La perfusion de l'estomac a été réalisée sur 20 rats Wistar mâles, d'un poids moyen de 400 g comme ceux utilisés dans l'expérimentation précédente de l'estomac au pylore lié. Les animaux ont été anesthésiés au nembutal et opérés dans les conditions décrites plus haut (pages 23 à 25) ; l'éthanol en solution a été injecté lentement par une veine jugulaire canulée à la dose de 2 g par Kg de poids corporel, les animaux témoins recevant un volume équivalent de chlorure de sodium à 9 g pour 1000. Sur le liquide de perfusion nous avons titré l'acidité totale et mesuré l'activité protéolytique selon les techniques déjà indiquées (pages 28 à 35).

II - RESULTATS.

A. Ligature du pylore.

La première observation que nous avons faite est que l'alcool injecté aux doses employées ne change pas la durée de l'anesthésie; en effet les animaux traités se réveillent aussi rapidement que les témoins mais ils restent cependant dans un état de prostation d'autant plus long que la quantité d'alcool est plus importante sans toutefois dépasser 30 à 45 minutes.

Nous avons rapporté les résultats chiffrés de cette expérimentation sur le tableau n° 9 où nous pouvons voir qu'à la dose 0,5 g par Kg, l'éthanol ne modifie pas significativement le volume de sécrétion gastrique, l'acidité libre et l'acidité totale mais augmente l'activité protéolytique chez les animaux témoins, le taux de pepsine (titre 200) est de 15,86 $\pm$ 0,74 mg par ml de suc au bout de 2 h 30 et 18,30 $\pm$ 0,92 chez les rats traités (P = 0,05) ; cependant cette variation de pepsine ne se retrouve pas 5 h et 7 h 30 après la ligature du pylore. A cette même dose de 0,5 g par Kg

nous avons observé une diminution significative de la concentration de glucosamine dans le suc gastrique des rats alcooliques : 219,85 ± 20,51 µg de glucosamine par ml chez les rats témoins et 149, 14 ± 22,32 (P< 0,05) chez les animaux traités : cette diminution se retrouve également pour la glucosamine du tissu gastrique (P<0,05) et il faut noter que , dans ce lot, 40 pour 100 de nos animaux ont présenté des altérations superficielles avec des brèches de la muqueuse sans que le traitement alcoolique n'ait d'effet.

A la concentration de 1 g par Kg, l'éthanol entraîne une diminution très significative de la quantité de suc à tous les temps étudiés : par exemple au bout de 2 h 30 de ligature du pylore, la sécrétion gastrique a un volume de 5,37 ± 0,77 ml chez les rats témoins et de 2,05 ± 0,33 ml chez les rats traités (P < 0,001). Par ailleurs, l'éthanol provoque aussi une diminution de l'acidité libre du suc à 5 h : 67,72 ± 6,93 m Eq par litre pour les rats témoins et 45,22 ± 6,60 m Eq par litre après le traitement (P < 0,05). A part ces modifications du volume et de l'acidité libre, l'éthanol à cette dose n'a pas d'effet statistiquement significatif sur l'acidité totale, l'activité peptique, le taux de glucosamine et la fréquence des ulcères.

A la dose de 2 g par Kg, l'éthanol provoque une diminution du volume du suc d'une façon hautement significative (P < 0,001) quelque soit le temps étudié ; nous trouvons respectivement à 2 h 30, 5 h et 7 h 30 de ligature pylorique 5,96 ± 0,99 ml ; 12,70 ± 1,07 ml et 14,90 ± 0,16 ml chez les rats témoins, contre 1,45 ± 0,24 ml; 2,88 ± 0,45 ml et 4,38 ± 1,07 ml chez les rats alcooliques. Quant aux acidités libre et totale du suc, elles sont également diminuées chez les rats traités, mais les résultats ne sont significatifs que 5 heures après la ligature du pylore. De même l'activité peptique est plus élevée chez les rats traités où nous trouvons 24,69 ± 1,65 mg de pepsine par ml de suc, que chez les animaux témoins avec 17,33 ± 1,05 mg par ml (P < 0,05) . La glucosamine enfin est significativement bien plus élevée dans le suc des animaux traités que dans celui des rats témoins où nous trouvons respectivement 286,78 ± 23,89 µg par ml de suc et 167,87 ± 21,32 µg par ml à 5 heures (P<0,01) ainsi que 332,67 ± 46,67 µg par ml et 201,13 ± 15,34 µg par ml à 7 heures (P < 0,02). Nous n'avons pas trouvé de zones ulcéreuses même superficielles dans les estomacs de rats traités , alors que nous en avons remarqué quelques-unes chez les rats témoins ; de plus nous avons noté que les animaux traités à 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel ont la muqueuse gastrique beaucoup plus pâle que les rats témoins, ce qui peut être un indice d'une modification de la circulation sanguine.

TABLEAU N°9

Modifications de l'estomac et du suc gastrique après ligature du pylore chez des rats témoins et des rats traités à l'éthanol par voie intraveineuse.

Dose EtOH		0,5 g / Kg			1 g / Kg			2 g / Kg		
Durée de l'expérience		2 h 30	5 h	7 h 30	2 h 30	5 h	7 h 30	2 h 30	5 h	7 h 30
Nombre d'animaux	témoins	10	10	7	11	12	10	11	10	9
	traités	10	10	7	11	13	10	11	10	9
Volume du suc ml	Témoins	4,46±0,53	9,56±1,33	13,51±1,07	5,37±0,77	8,42±1,11	16,04±0,76	5,96±0,99	12,70±1,07	14,90±1,16
	Traités	2,73±0,74	7,43±1,01	14,97±1,48	2,05±0,33	5,24±0,55	9,49±0,96	1,45±0,24	2,88±0,45	4,38±1,07
	t	1,911 (18)	1,279 (18)		3,971 (20)	2,765 (23)	5,349 (18)	5,159 (20)	9,595 (18)	6,534 (16)
	P	N.S.	N.S.	N.S.	0,001	0,02	0,001	0,001	0,001	0,001
Acidité libre du suc m Eq/l	Témoins	73,10±7,40	80,56±6,53	76,60±8,20	57,85±9,31	67,72±6,93	73,28±4,78	55,90±8,56	78,64±6,89	73,53±7,88
	Traités	58,62±9,25	79,20±5,75	85,80±8,90	37,20±7,59	45,22±6,60	66,25±7,83	42,64±6,97	25,81±5,92	54,03±11,47
	t	1,241 (18)			1,696 (17)	2,322 (19)	0,793 (12)	1,185 (17)	5,826 (14)	1,457 (15)
	P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,05	N.S.	N.S.	0,001	N.S.
Acidité totale du suc m Eq/l	Témoins	105,00±4,74	108,00±6,33	110,00±6,11	88,42±8,47	101,25±6,20	103,43±5,41	89,47±9,07	114,19±5,81	106,54±4,08
	Traités	107,62±5,02	112,60±4,60	112,00±6,97	86,22±5,96	91,38±5,82	99,33±9,44	78,91±6,73	84,64±5,53	95,23±12,25
	t	0,379 (18)			0,208 (17)			0,918 (17)	3,690 (14)	1,009 (15)
	P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,01	N.S.
Pepsine (t.200) du suc mg/ml	Témoins	15,86±0,74	17,58±0,73	22,99±1,42	12,89±0,57	16,07±1,08	15,88±0,70	17,33±1,05	21,13±0,86	23,48±2,48
	Traités	18,30±0,92	19,53±2,18	23,90±1,81	13,39±0,92	14,88±0,97	17,18±0,94	24,69±1,65	19,88±2,65	25,01±3,13
	t	2,090 (20)						3,511 (18)	0,427 (18)	0,389(16)
	P	< 0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,01	N.S.	N.S.

TABLEAU N°9 (suite)

Dose EtOH		0, 5 g / Kg			1 g / Kg			2 g / Kg		
Durée de l'expérience		2 h 30	5 h	7 h 30	2 h 30	5 h	7 h 30	2h 30	5 h	7 h 30
Glucosamine du suc µg/ml	Témoins	172,30±13,09	203,00±27,52	219,85±20,51	220,80±19,96	226,91±14,48	188,10±16,52	237,00±35,04	167,87±21,32	201,13±15,34
	Traités	230,57±33,24	215,57±35,38	149,14±22,32	284,44±24,34	230,50±15,97	234,33±17,24	223,47±28,04	286,78±23,89	332,67±46,67
	t	1,632 (12)		2,333 (12)	1,652 (11)		1,936 (12)	0,294 (12)	3,605 (14)	2,880 (11)
	P	N.S.	N.S.	0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,01	0,02
Glucosamine du tissu mg/g t.s.d.	Témoins	11,86±0,57	12,66±0,48	12,00±0,23	12,43±0,57	12,61±0,22	11,82±0,28	13,24±1,23	13,36±1,02	13,51±1,23
	Traités	11,39±0,27	12,16±0,73	10,79±0,41	12,53±0,32	12,44±0,35	12,43±0,47	12,48±1,40	11,87±0,78	13,28±1,29
	t			2,554 (12)				0,408 (12)	1,180 (14)	
	P	N.S.	N.S.	0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Poids frais du tissu gastr. (en g)	Témoins	1,70±0,04	1,79±0,04	1,80±0,06	1,90±0,06	1,91±0,07	2,17±0,14	1,78±0,05	1,96±0,08	1,97±0,05
	Traités	1,55±0,06	1,61±0,05	1,75±0,09	1,85±0,03	1,85±0,04	1,90±0,05	1,83±0,04	1,83±0,09	1,89±0,06
	t						1,982 (18)	0,773 (18)		
	P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Poids sec délip. du tissu gastr. (en g)	Témoins	0,249±0,009	0,253±0,004	0,250±0,008	0,276±0,006	0,275±0,006	0,293±0,013	0,264±0,007	0,281±0,008	0,279±0,006
	Traités	0,236±0,010	0,247±0,012	0,247±0,012	0,287±0,006	0,282±0,005	0,278±0,011	0,281±0,006	0,272±0,004	0,276±0,010
	t							1,826 (22)		
	P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
EtOH du suc (mg/ml)	Traités	0,30± 0,08	0,07 ± 0,02	0	1,15±0,03	0,40±0,04	0,18±0,02	2,32±0,14	1,89±0,06	1,27±0,10
Ulcères gastr.	Témoins	0	10 %	30 %	0	10 %	30 %	0	0	10 %
		0	10 %	30 %	0	0	20 %	0	0	0

t : valeur du " t " (test de Student). Le nombre qui suit la valeur du t est le degré de liberté
t.s.d. : tissu sec délipidé.

La teneur en éthanol du suc la plus élevée est dans la sécrétion gastrique des animaux sacrifiés 2 h 30 après le traitement et elle est en rapport avec la dose injectée ; il est intéressant de noter par ailleurs que le taux d'alcool dans le suc diminue d'autant plus vite que la quantité administrée est plus faible. Ainsi à la dose de 0,5 g par Kg la disparition de l'éthanol est totale au bout de 7 h 30, à la dose de 1 g par Kg nous trouvons 1,15 $\pm$ 0,03 mg d'éthanol par ml de suc au bout de 2 h 30 et 0,18 $\pm$ 0,02 mg après 7,30 tandis qu'à la dose de 2 g par Kg il reste 7 h 30 après la ligature du pylore 50 pour 100 de la quantité d'éthanol contenue dans le suc gastrique des rats au pylore lié depuis 2 h 30.

D'une manière générale et pour tous les groupes de rats, il n'y a aucun changement significatif du poids frais du tissu gastrique compris entre 1,55 g et 2,17 g ni du poids sec délipidé de ce même tissu qui varie entre 0, 236 g et 0, 293 g.

Dans cette expérimentation nous n'avons pas calculé la corrélation acide/ pepsine; étant donné la diminution du volume de sécrétion au cours du traitement alcoolique et l'évolution irrégulière de l'acidité et de l'activité protéolytique, l'étude de la corrélation ne donnerait pas d'indication intéressante. Le test de t que nous avons effectuer donne donc simplement la signification des différences sécrétoires entre les rats témoins et les rats traités.

B. Perfusion de la cavité gastrique.

1°- Sécrétion acide.

Nous pouvons voir dans le tableau n° 10 que dans nos conditions expérimentales la sécrétion acide d'une telle préparation est de l'ordre de 2,3 μ Eq par 15 minutes et qu'elle a un peu tendance à diminuer au cours du temps comme l'indique la courbe de sécrétion des rats témoins (figure n° 8) . Après l'injection d'éthanol l'acidité augmente en 45 minutes jusqu'à un maximum de 6,41 μ Eq soit 2,8 fois la sécrétion de base puis diminue mais d'une manière moins rapide que l'augmentation,et on peut considérer que la sécrétion de base est recouvrée entre 90 et 105 minutes après l'injection d'éthanol. Nous avons remarqué de plus que si l'hypersécrétion acide est très nette chez tous les rats, elle est quelquefois décalée, ce qui est traduit par une erreur moyenne élevée.

Pour avoir une indication statistique de la signification de cette hypersécrétion nous avons alors calculé pour chaque rat l'aire de la courbe correspondant à l'acidité consécutive au

TABLEAU N°10

Effets d'une injection intraveineuse d'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel sur les sécrétions acide et peptique de l'estomac perfusé de rats.

	Sécrétion de base			Injection	Sécrétion après traitement						
					15 mn	30 mn	45 mn	60 mn	75 mn	90 mn	105 mn
ACIDITE en µ Eq HCl/15 mn	moyenne : 2,34 ± 0,41										
Témoins (8 animaux)	2,60 ±1,21	2,10 ±0,81	2,20 ±0,74	NaCl 9 p. 1000	2,33 ± 0,92	2,56 ± 0,93	2,32 ± 0,62	1,55 ±0,33	1,53 ±0,32	1,81 ± 0,48	1,36 ±0,32
Traités (9 animaux)	2,50 ±1,23	2,32 ±1,09	2,25 ± 1,01	EtOH 2g/Kg	2,37 ±0,92	2,99 ±1,14	6,41 ± 3,07	5,09 ± 2,42	4,06 ±2,21	2,93 ±1,27	2,51 ±1,07
PEPSINE en mg (t.200)/15mn	moyenne : 1,29 ± 0,11										
Témoins (8 animaux)	1,45 ±0,26	1,20 ±0,24	1,25 ±0,33	NaCl 9 p.1000	1,03 ±0,26	1,30 ± 0,38	1,12 ± 0,22	0,90 ± 0,15	0,91 ±0,13	1,12 ±0,19	1,32 ±0,30
Traités (9 animaux)	1,40 ±0,23	1,22 ± 0,14	1,24 ± 0,10	EtOH 2 g/Kg	1,23 ±0,20	1,53 ±0,23	1,89 ± 0,24	1,87 ±0,25	1,51 ±0,20	1,26 ± 0,19	1,24 ±0,21

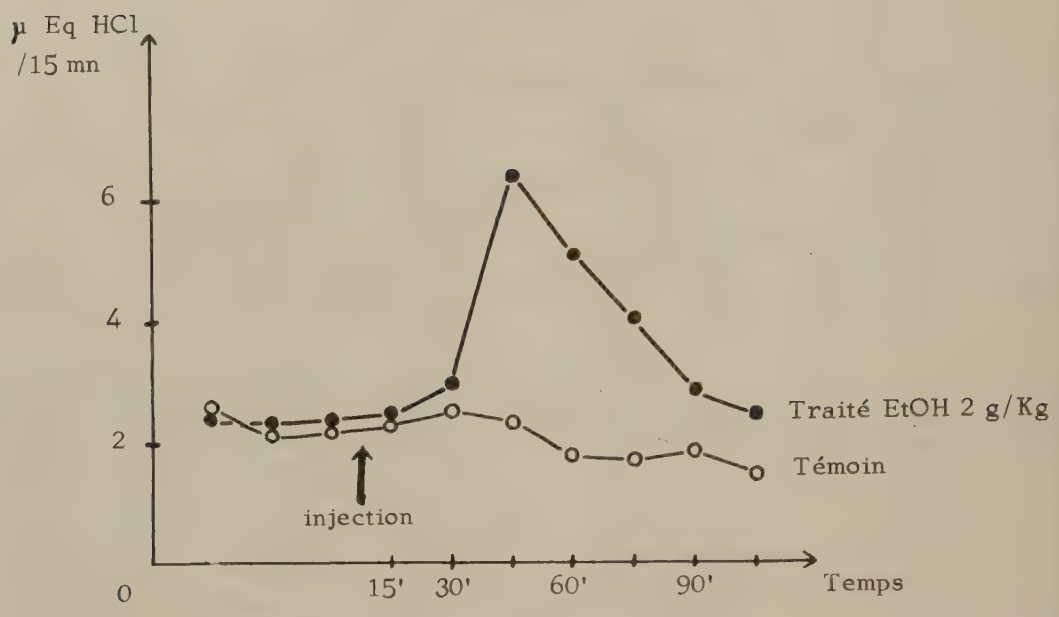


FIGURE N°8 - Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion acide de l'estomac perfusé de rats normaux.

traitement ; nous obtenons ainsi des valeurs globales, comparables entre elles avec lesquelles nous pouvons effectuer par exemple le test de t . Cependant la dispersion des résultats, due aux sécrétions de base différentes pour chaque rat comme l'a observé BARRETT (32) nous a obligé à ne tenir compte que des modifications quantitatives du débit de la sécrétion : nous avons donc distingué pour chaque rat d'une part la sécrétion de base arbitrairement délimitée par la valeur moyenne d'acidité avant le traitement et d'autre part la production d'acide après le traitement. Nous avons vu que dans ces conditions, l'hypersécrétion consécutive à l'administration d'éthanol est statistiquement significative, car l'aire correspondante au traitement est de 0,53 cm^2 $\pm$ 0,21 chez les rats témoins (tableau n° 11) tandis que chez les rats alcooliques elle est de 9,33 cm^2 $\pm$ 2,48 ($P<0,05$).

2°- Sécrétion pepsique.

La sécrétion de pepsine quant à elle, est de l'ordre de 1,3 mg de pepsine (titre 200) par 15 minutes avant l'injection comme on peut le voir dans le tableau n° 10 et sur la figure n° 9 et elle augmente jusqu'à 1,89 dans les 45 minutes après le traitement alcoolique ; cette hyperactivité

TABLEAU N° 11

Effets d'une injection intraveineuse d'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rats. (105 minutes de sécrétion après le traitement).

Les valeurs exprimées sont les aires des courbes correspondant à l'acidité ou à l'activité peptique.

1° ACIDITE :

rats témoins ---------- + 0,53 cm^2 ± 0,21)
Acidité de base : 9,90 cm^2 ± 3,67) P<0,05
rats traités ---------- + 9,33 cm^2 ± 2,48)

Le test de t a été effectué sur des aires ne comprenant pas l'acidité basale.

2° PEPSINE :

rats témoins ---------- 31,06 cm^2 ± 4,98) P<0,05
rats traités ---------- 46,19 cm^2 ± 3,81)

protéolytique reste élevée 60 minutes après l'injection et la valeur de la sécrétion de base se retrouve dans les 90 minutes; il faut que si la sécrétion de pepsine est augmentée avec l'éthanol, elle l'est malgré tout dans une proportion moindre que l'acidité; pour évaluer statistiquement l'hypersécrétion pepsique nous avons, comme précédemment, calculé l'aire de la courbe mais la stabilité de la sécrétion basale nous a permis de comparer l'ensemble de l'activité sécrétoire; c'est ainsi que la sécrétion de pepsine est représentée par une surface de 31,06 ± 4,98 cm^2 chez les animaux témoins et 46,19 ± 3,81 cm^2 chez les animaux traités (P<0,05).

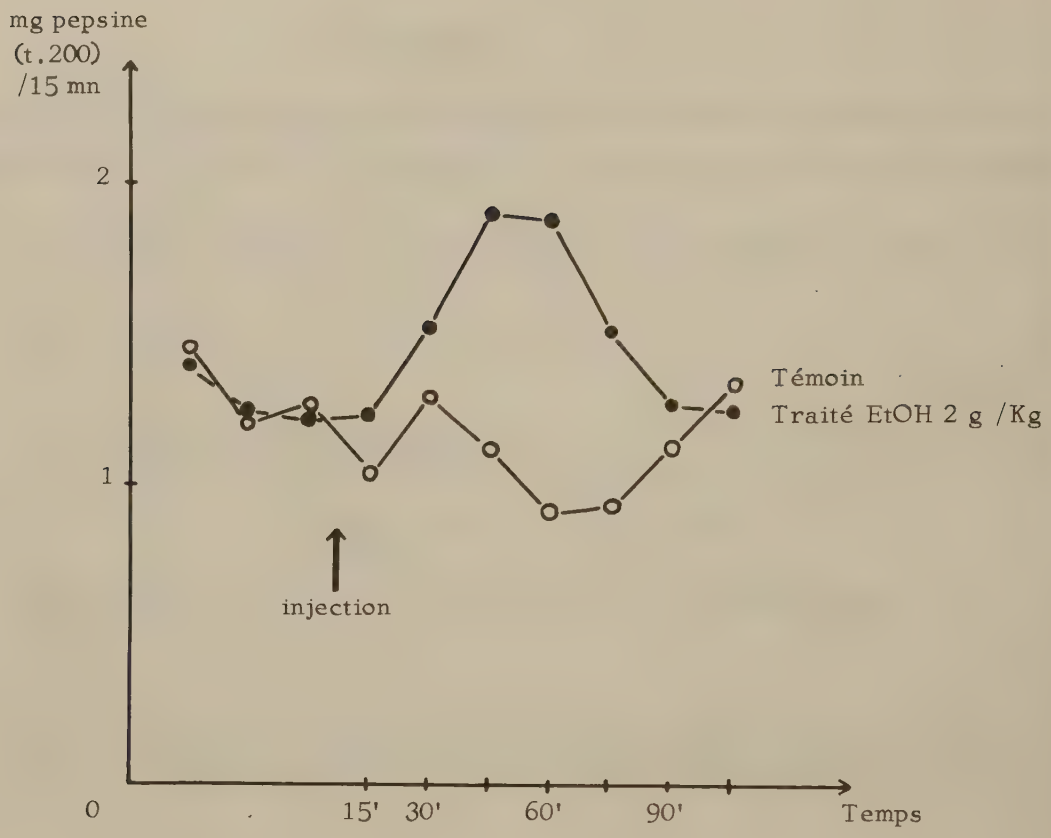


FIGURE N° 9 - Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion pepsique de l'estomac perfusé de rats normaux

3°- Etude corrélative.

A la suite de ces observations, nous avons pensé qu'il était intéressant de comparer mathématiquement les deux constituants du suc gastrique dans ces conditions; nous avons donc établi la corrélation entre l'acide ($\underline{x}$) et la pepsine ($\underline{y}$) sécrétés dans l'heure immédiatement consécutive à l'injection des solutions d'éthanol ou de chlorure de sodium à 9g pour 1000 , c'est à dire pendant la période de stimulation ; les résultats présentés dans le tableau n° 12 indiquent que la corrélation est statistiquement aussi significative chez les rats témoins que chez les rats traités.

L'équation des droites de régression ainsi calculée, indique une légère différence de la pente qui est de 0,18 chez les rats témoins et de 0,06 après le traitement alcoolique; en d'autres termes on peut dire que , bien qu'il y ait corrélation entre les deux constituants de la sécrétion , l'évolution ne se fait pas exactement de la même façon et ceci confirme donc l'allure des courbes

TABLEAU N° 12

Corrélation entre l'acide et la pepsine de l'estomac perfusé, sécrétés dans l'heure immédiatement consécutive à l'injection d'une solution de chlorure de sodium à 9 g pour 1000 ou d'une solution d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel).

		TEMOINS (n = 32)	TRAITES (n = 36)
Corrélation	r	0 59	0, 55
	t	4, 000	3, 770
	P	P<0, 001	P < 0, 001
	F	16,02 (1 p. 100)	15,03 (1 p. 100)
Equation de la droite		y=(0,18 x ± 0,05) + (0,50±0,10)	y=(0,06 x± 0,02) + (1,36±0,07)

d'hypersécrétion où l'activité protéolytique reste à un niveau plus élevé pendant un temps plus long que l'acidité gastrique.

4°- Etat de l'estomac.

Nous n'avons enfin remarqué aucune modification macroscopiquement visible de la muqueuse gastrique lorsque nous avons examiné l'estomac à la fin de l'expérience; le liquide de perfusion reste d'ailleurs toujours parfaitement limpide, ce qui est le signe de l'absence d'une altération profonde des différentes couches cellulaires de cet organe.

III- DISCUSSION ET CONCLUSION.

A. Ligature du pylore.

1º Sécrétion.

Dans l'estomac de rats témoin dont le pylore est ligaturé, on peut dire que le volume de la sécrétion gastrique est lié à un transfert d'eau important de l'organisme vers la muqueuse tout au moins pendant la courte période expérimentale que nous avons utilisée ; à ce volume sécrétoire élevé est d'ailleurs associée une forte acidité ce qui laisse penser que la sécrétion acide est plus ou moins liée directement au flux sécrétoire, et que l'activité protéolytique suit elle aussi dans une certaine proportion soit le volume de la sécrétion, soit l'acidité totale.

Lorsque l'on injecte des doses plus ou moins fortes d'alcool éthylique, l'équilibre hydrique de l'organisme est modifié (390) car la propriété physique essentielle de l'alcool est d'être hygroscopique et déshydratante (49); BERNARD et coll. ont montré que la conséquence immédiate de cette propriété est de déshydrater les tissus comme le tissu gastrique (49) et le tissu hépatique (50) bien que l'alcoolémie ne dépasse pas 2 à 4 g par litre. La conséquence de cette action est un moindre transfert d'eau à travers la muqueuse digestive ce qui se traduit dans l'estomac au pylore lié par une diminution très nette du volume sécrétoire.

On peut donc penser en définitive que l'alcool exerce ses effets sur l'estomac au pylore ligaturé par une action secondaire et il y a donc dans ce cas une contradiction dans l'action de l'éthanol sur la sécrétion gastrique, contradiction peut-être liée à sa diffusion et à sa retenue par l'organisme; ceci explique que l'acidité libre et l'acidité totale sont plutôt diminuées chez les rats traités alors que les deux variations significatives de l'activité protéolytique vont dans le sens d'une augmentation sécrétoire.

2º- La muqueuse.

La mesure des hexosamines est une estimation biochimique du mucus (183, 271) plus spécifique que d'autres méthodes évaluant les acides uroniques, le glucose, les mucoprotéines ou la viscosité (388) et la présence de substances analogues d'origine sanguine pouvant interférer dans le dosage est négligeable (222). C'est pour cette raison que certains auteurs ont étudié dans l'estomac la relation entre la modification de la teneur en sucres aminés et la fréquence des ulcères (389),et il a été observé que le mucus avait un rôle protecteur dans l'apparition des atteintes tissu

laires de l'estomac (270, 488). De plus on sait que normalement la vitesse de renouvellement des cellules de la muqueuse gastrique est très rapide (53, 436) et quelques auteurs ont observé une augmentation de l'activité mitotique au cours du jeûne (96) de l'ulcère pepsique (442), de la sprue (363), de l'irradiation ou sous l'effet de substances comme l' ACTH (379) et les minéralocorticoïdes (378).

La possibilité d'un effet ulcérogène de l'éthanol sur la muqueuse a été très étudiée et les résultats de différents auteurs sont discutés : les premiers travaux de FRIEDENWALD (150) et GREGGIO (177) ont montré que l'alcoolisme chronique ne cause pas de gastrite chez le Lapin ou l'Homme et en 1950, IVY et coll (229) concluaient qu'on ne peut pas justifier l'impression clinique du rôle de l'alcool dans la pathogénie de l'ulcère : cette idée a été soutenue par d'autres auteurs (280).

Chez le Rat il a été observé que l'éthanol déclencle ou aggrave une ulcération de l'estomac (402) soumis par exemple à des stimulations électriques (6) ou psychiques (4) ; ZAMPI et SMORLESI (489) ont noté que l'éthanol augmentait la production de mucine alors qu'en solution à 20 pour 100 il n'affecte pas la muqueuse (478). GILLESPIE et LUCAS (166) ont étudié la possibilité d'un effet additif de l'alimentation ; ils ont observé (167) que des doses toxiques d'éthanol à faible concentration ne provoquaient pas de dommages de la muqueuse gastrique de rats bien alimentés et qu'une légère ulcération apparaît au cours de la dénutrition ce qui avait déjà été noté chez l'Homme (240) ; quelques auteurs ont également remarqué l'effet protecteur de certaines substances alimentaires (217) ou de la vitamine A (321) sur l'ulcère gastrique du Rat ou de la Souris. On peut donc dire que l'effet directement toxique de l'éthanol sur les gastrites est discuté chez l'Homme (280 , 478) et chez d'autres espèces animales (150, 229) mais il semble bien que l'agression de la muqueuse de Rat par des doses uniques d'alcool est minine (166, 411), résultat que nous retrouvons dans nos conditions ; la faible concentration d'alcool dans le suc, qui diminue dans le temps probablement en étant métabolisé, n'a en définitive aucun effet sur la fréquence des ulcères gastriques du Rat tout en exerçant partiellement un certain pouvoir mucinogène comme cela a été observé aussi chez l'Homme (51).

B. Perfusion de la cavité gastrique.

L'action de l'éthanol sur la sécrétion acide de l'estomac perfusé nous a donné des résultats opposés à ceux obtenus par la ligature du pylore : dans le cas de la perfusion, en effet, l'éthanol provoque indubitablement une augmentation significative de l'acidité et nous retrouvons là les résultats classiques observés par de nombreux auteurs (3, 86, 134 , 135, 148, 152, 202, 210, 275, 349 et 483). Nous nous rapprochons en effet des conditions dans lesquelles l'alcool peut agir

non seulement par ses conséquences qu'il peut avoir sur les mouvements d'eau comme nous l'avons noté précédemment, mais également par ses propriétés pharmacologiques sur les cellules de la muqueuse gastrique, ce qui peut ne pas être le cas de l'estomac au pylore ligaturé.

La contradiction des résultats obtenus avec deux techniques d'étude de la sécrétion gastrique est probablement due à des conditions méthodologiques différentes : en effet dans le cas de la perfusion, il y a en permanence dans l'organe un volume constant de solution aqueuse ce qui a comme avantage d'abord de ne pas provoquer de modifications sécrétoires dues à une distension variable des tissus et ensuite de maintenir l'équilibre hydrique entre l'estomac et les compartiments corporels ; en d'autres termes la présence d'eau en grande quantité dans l'estomac peut dominer les effets déshydratants de l'alcool alors que dans la technique de la ligature du pylore, il n'y a aucune correction de cet ordre.

En ce qui concerne l'activité protéolytique il est à remarquer que dans les deux techniques, l'estomac étant ligaturé ou perfusé, l'éthanol provoque une augmentation de la sécrétion de pepsine plus ou moins nette. Sans vouloir donner une importance exagérée à ces résultats on peut cependant noter d'une part que cette sécrétion pepsique n'est pas forcément liée à la sécrétion acide comme l'a souligné HIRSCHOWITZ(213) et comme l'indiquent les équations des droites de régression que nous avons calculées, d'autre part qu'elle semble partiellement indépendante du transfert d'eau à travers la membrane ; ainsi l'alcool stimulerait-il directement les cellules principales qui libéreraient la pepsine ou le pepsinogène dans la lumière gastrique.

Par ailleurs, pour avoir une vue plus globale du phénomène étudié nous avons pensé qu'il était intéressant de faire le point des connaissances actuelles sur deux problèmes annexes de notre travail, à savoir d'une part l'absorption et la diffusion de l'éthanol, d'autre part les relations entre le flux sanguin et la sécrétion acide.

C. Absorption et diffusion de l'éthanol.

Dans les expériences précédentes, l'éthanol a été perfusé par voie veineuse et il est possible que la voie de traitement intervienne relativement peu à condition de rester dans certaines limites de concentration et de dose (48) ; l'alcool éthylique est en effet une substance de faible poids moléculaire (P.M. : 46,07) soluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques en toute proportion , qui se répartit dans l'organisme par diffusion (96) quelque soit son mode d'apport: intrapéritonéal (285, 466), intraveineux (285) ou oral ; cette diffusion est rapide à travers les épithéliums gastrointestinal (131) et pulmonaire (292) mais très lente à travers le tissu cutané non lésé (57, 67, 473) sauf chez la Grenouille (353) ce qui montre une certaine spécificité.

Administré par voie orale, il est absorbé au niveau de l'estomac (371) et dans l'intestin (199) et se retrouve presque immédiatement dans le sang (153) mais sa vitesse de résorption est modifiée par de nombreux facteurs comme sa dilution (41), l'accoutumance (150, 350), la vacuité gastrique (96), les graisses (319), le travail musculaire (204), les drogues sympathico-mimétiques (386), le gaz carbonique (130), l'insuline (302) le glycocolle (351) et par des troubles pathologiques comme les gastrites (48). Après l'absorption, l'alcool est rapidement distribué (192, 286) dans l'espace corporel " alcool " qui est approximativement le même que l'espace " eau " (368) chez l'Homme, puis il est dégradé dans le foie (283). Le caractère passif de la répartition de l'alcool est d'ailleurs demontré par sa diffusion, même après la mort (375).

DAVENPORT (104, 105) a observé chez le Chien que l'absorption de l'éthanol au niveau de l'estomac est indépendante du pH et qu'elle est réalisée dans les mêmes proportions en milieu neutre comme en milieu acide,à condition que l'alcool soit à des concentrations inférieures à 20 pour 100. Cet auteur a d'ailleurs calculé un cœfficient d'absorption k qui est un rapport entre l'absorption et la concentration d'éthanol dans la poche gastrique,d'après l'équation :

$$k = \frac{\Delta \text{ EtOH}}{[\overline{\text{EtOH}}]}$$

où Δ EtOH est le débit d'absorption en mg par minutes .

et $[\overline{\text{EtOH}}]$ est la concentration d'éthanol dans la poche, en mg par ml,obtenue en divisant par deux la somme des concentrations initiale et finale.

Les unités de k sont en ml par minute et les résultats de DAVENPORT montrent chez le Chien que le coefficient k est égal à 0,5 et que la vitesse d'absorption de l'éthanol est directement proportionnelle à la concentration ce que COOKE et BIRCHALL (75) ont également observé chez l'Homme.

L'accord entre tous les auteurs semblent donc être réalisé pour admettre que l'alcool traverse rapidement la barrière gastro-intestinale et se retrouve très tôt dans le sang. Le mécanisme de cette absorption ou de cette diffusion, les deux termes étant parfois confondus dans ce cas précis, est cependant discuté et la différence de tension superficielle entre l'eau et l'alccol, la solubilité de l'alcool dans l'eau et les graisses ou le rôle d'un facteur nutritionnel sont des explications possibles du mécanisme (371). De toute façon l'éthanol provoque donc une augmentation de la sécrétion de l'estomac soit qu'il ait été absorbé au niveau du tractus gastro-intestinal soit qu'il ait été administré directement par voie veineuse.

D. Flux sanguin et sécrétion acide.

L'étude concomitante de la sécrétion et du flux sanguin au niveau de l'estomac a été l'objet de nombreuses recherches qui ont eu pour but d'étudier les relations possibles entre ces deux facteurs. Malheureusement les difficultés et les différences méthodologiques n'ont souvent pas permis d'obtenir des résultats systématiques et homogènes. Il y a par exemple autant de travaux en faveur d'une diminution qu'en faveur d'une augmentation de la circulation sanguine de l'estomac par l'histamine (235). Cependant les nouvelles méthodes comme l'adaptation des appareils utilisés pour mesurer le flux cardio-vasculaire (396) ou l'étude de la " clearance " de composés tels que le ^{42}K (115) et l' amidopyrine (234) ont permis de calculer effectivement la véritable circulation gastrique par rapport à la sécrétion acide. C'est ainsi que l'on peut considérer à l'heure actuelle que l'histamine et la gastrine augmentent la sécrétion et le flux sanguin de l'estomac (397), mais les différentes conditions de stimulation et d'inhibition peuvent en altérer le rapport (234).

On peut alors penser que la sécrétion acide n'est pas rigoureusement associée au flux sanguin parce que ce flux sanguin apparaît plus comme un facteur limitant que comme un facteur déterminant de la réponse sécrétoire ; en d'autres termes il semble que l'hypovascularisation gastrique diminue la sécrétion sans pour autant que l'augmentation de la circulation sanguine locale puisse provoquer un accroissement de la production d'acide ; de plus, il n'est pas sûr que l'irrigation de la muqueuse elle-même soit le reflet exact de la circulation stomacale pendant une quelconque stimulation (327,479) d'autant plus que la température (323) , l'anesthésie (233) ou l'innervation (70) modifient également la réaction sécrétoire dans certaines conditions.

Par ailleurs il est connu depuis longtemps que l'alcool éthylique a une action vasodilatatrice sur la circulation périphérique (206) mais l'étude directe de son effet sur le flux sanguin n'a été que peu abordée surtout chez le Rat; chez le Chien cependant, SMYTHE et coll. (430) n'ont trouvé aucune modification du flux sanguin hépatique avec des doses narcotiques d'éthanol tandis que chez l'Homme MENDELOFF (325) a observé une augmentation de ce flux mais ce résultat a été confirmé (85) et contredit (76) ce qui ne permet pas de conclusions très nettes.

Au niveau de l'estomac,à notre connaissance,les effets de l'alcool sur la circulation ont été également peu étudiés ; néanmoins AUGUR (22) a observé que le flux sanguin gastrique diminue au cours d'atteintes hémorragiques de la muqueuse et il est raisonnable de penser que normalement la vasodilatation provoquée par l'éthanol à faible dose permet une accélération de la circulation.

En résumé cette étude nous a permis d'établir les points suivants :

1° La sécrétion de l'estomac de SHAY est fortement perturbée par une dose d'alcool administré par voie veineuse et il semble que l'équilibre hydrique de l'organisme soit momentanément modifié par un tel traitement ; ainsi les résultats observés sur de courtes périodes sécrétoires sont-ils très influencés par les mouvements d'eau et peuvent donc ne pas être totalement sous la dépendance d'un effet spécifique de l'éthanol sur la cellule ou l'organe. Cette caractéristique limite donc l'emploi d'une telle technique qui est peu utilisable pour la recherche des modifications gastro-sécrétoires de l'éthanol ; c'est pour cette raison que nous n'avons pas utilisé ultérieurement cette méthode pour étudier directement l'effet de l'alcool éthylique sur la sécrétion gastrique mais nous l'avons employée comme test biologique pour mettre en évidence,par exemple,un facteur gastrosécrétagogue urinaire ou pour doser la gastrine.

Par contre, la méthode dite de perfusion,du fait qu'elle assure l'équilibre hydrique, semble être la méthode de choix chez le Rat pour étudier le phénomène et le mécanisme de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol. C'est donc cette méthode que nous avons utilisée dans la suite de notre travail lorsque l'éthanol devait être administré à l'animal en vue d'une étude des différents facteurs en relation avec l'éthanol et la sécrétion gastrique.

2° L'alcool éthylique provoque une augmentation sécrétoire acido-peptique de l'estomac perfusé du Rat. Nous confirmons ainsi, dans des conditions expérimentales particulières, les résultats de précédents auteurs.

Par ailleurs, on peut ajouter:

1° Que l'alcool diffuse largement à travers la paroi gastrique lorsqu'il est administré par voie orale et se trouve très rapidement dans le sang ; son influence peut ainsi s'exercer très précocément par voie générale quelque soit en définitive la voie de traitement.

2° Que la modification du flux sanguin au cours d'un traitement alcoolique n'est pas certaine et qu'il n'a pas été établi de relation entre le débit du sang au niveau gastrique et l'hypersécrétion provoquée par l'éthanol.

TROISIEME PARTIE

LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE PROVOQUEE PAR L' ETHANOL

INTRODUCTION

CHAPITRE I : ACTION DIRECTE DE L' ETHANOL ET ROLE DE L'INNERVATION VAGALE.

CHAPITRE II : ROLE DES INTERMEDIAIRES DE LA SECRETION GASTRIQUE.

CHAPITRE III : ROLE DU METABOLISME DE L' ETHANOL.

TROISIEME PARTIE

LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE PROVOQUEE PAR L'ETHANOL

Dans le chapitre précédent nous avons étudié quelques conditions dans lesquelles l'alcool éthylique augmente les sécrétions acide et pepsique de l'estomac de Rat, et nous avons remarqué que l'éthanol administré par voie veineuse provoque notamment une hypersécrétion de l'estomac perfusé. Etant donnée la nature de cette substance et la réponse gastrique qu' elle entraîne, il est permis de penser qu'elle intervient dans le fonctionnement sécrétoire de l'estomac lui-même pour en exalter certains facteurs, mais la recherche de son mode d'action est difficile à établir car le mécanisme intime de la sécrétion normale est mal connu. Nous avons vu que les deux produits spécifiques du suc gastrique, c'est-à-dire l'acide chlorhydrique et la pepsine sont secrétés grâce à des processus différents mais il peut exister entre eux, une certaine corrélation.

L'étude du mécanisme par lequel l'éthanol stimule les fonctions gastriques a, par ailleurs, fait l'objet d'un certain nombre de travaux. En 1940, DRAGSTEDT et coll. (124) ont noté une similitude d'action entre l'alcool et l'histamine : d'abord ces deux substances augmentent fortement le volume de la sécrétion et l'acidité mais beaucoup moins la pepsine (275) ; ensuite l'effet de ces deux stimulants sur la sécrétion gastrique est peu modifié par l'atropine ou par les graisses (174), et ces auteurs qui pensent que l'alcool et l'histamine agissent par un mécanisme commun font remarquer que l'alcool pourrait favoriser une libération d'histamine ou augmenter son activité gastro sécrétagogue.

CODE (88) a émis l'hypothèse que l'alcool agirait directement sur la cellule gastrique , indépendamment de tout autre processus et le rôle de l'effet direct de l'alcool circulant sur

la cellule pariétale a été également supposé par WEISE et coll. (471) bien qu'il n'existe pas c le Rat une corrélation significative entre l'alcoolémie et l'hypersécrétion gastrique ; GAILLARD et coll. (155) ont en effet observé que la teneur en alcool dans le sang se maintient à environ 170 pour 100 ml de sang pendant près de 2 h 30 lorsque l'alcool est injecté par voie veineuse, alors qu comme nous l'avons observé les phénomènes d'hypersécrétion gastrique sont pratiquement terminés au bout de 1 h 30 minutes dans les mêmes conditions expérimentales.

Après des travaux réalisés sur des hommes en bonne santé, HIRSCHOWITZ et coll. (210) ont admis que l'éthanol exerçait d'une part une action locale " non spécifique " en permettan une décharge de gastrine et d'autre part une action spécifique faisant intervenir le nerf vague. WOODWARD et coll. (482) qui ont montré que l'antrectomie diminue la réponse sécrétoire de l'es- tomac de Chien après un traitement alcoolique, ont suggéré que si l'histamine intervient dans le phénomène, elle peut provenir en grande proportion des autres tissus de l'organisme (483) mais ces auteurs n'ont pas fait de travaux expérimentaux dans ce sens. Par contre, IRVINE et coll.(22 ont mesuré l'histamine urinaire au cours d'une perfusion alcoolique chez le Chien et comme ils n'on observé aucune variation de l'histaminurie, ils supposent alors que l'alcool favoriserait la libé- ration de gastrine ; ces auteurs ont de plus indiqué que l'innervation vagale n'intervient pas car la vagotomie n'altère pas l'hyperacidité gastrique due à l'éthanol.

En 1965, DAVES et coll. (107) ont également noté que la teneur en histamine dans l sang et dans l'urine n'était pas modifiée après une traitement alcoolique chez le Chien et concluent que l'éthanol augmente la sécrétion gastrique d'abord par l'intermédiaire de la gastrine, ensuite pa une action directe sur la cellule pariétale. Enfin ELWIN (135) en 1969 remarque que le mécanism de la stimulation alcoolique n'est pas connu, mais qu'il est vraisemblable que l'alcool agit par une libération de gastrine (134).

A la suite de ces travaux, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'essayer de préciser les différentes voies par lesquelles l'alcool éthylique modifie la fonction sécrétoire de l'estomac ; dans ces conditions notre étude du mécanisme de ce phénomène comprendra trois parties que nous avons divisées de la façon suivante :

1° dans un premier temps nous avons recherché l'effet direct de l'alcool sur les cellules pariétales de la muqueuse gastrique et l'influence du système parasympathique dans

l'hypersécrétion provoquée par l'alcool.

2° Dans une deuxième partie nous nous sommes intéressés aux intermédiaires classiques de la sécrétion de l'estomac, c'est-à-dire l'histamine et la gastrine et nous avons tenté de mettre en évidence le rôle possible de ces deux substances dans les phénomènes sécrétoires au cours du traitement alcoolique.

3° Enfin nous avons recherché la possibilité du métabolisme de l'éthanol au niveau de la muqueuse gastrique en supposant que l'augmentation des ions H^+ qui apparaissent au cours de sa dégradation puissent participer à l'hypersécrétion de l'estomac.

CHAPITRE I

ACTION DIRECTE DE L' ETHANOL ET ROLE DE L'INNERVATION VAGALE DANS LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE

INTRODUCTION.

I- TECHNIQUES.

A. Estomac isolé.

B. Perfusion de la cavité gastrique de rat vagotomisé.

1° La vagotomie.

2° Protocole expérimental.

II- RESULTATS.

A. Estomac isolé.

1° En présence d'un milieu d'incubation contenant de l'éthanol.

2° Après une traitement alcoolique du rat " in vivo ".

B. Perfusion de l'estomac de rat vagotomisé.

III- DISCUSSION.

A. Estomac isolé.

1° En présence d'un milieu d'incubation contenant de l'éthanol.

2° Après un traitement alcoolique du rat " in vivo ".

3° Conclusion.

B. Perfusion de la cavité gastrique de rat vagotomisé.

1° Effet de la vagotomie sur la sécrétion acide.

2° Effet de la vagotomie sur la sécrétion pepsique.

3° Conclusion

Chapitre I

ACTION DIRECTE DE L' ETHANOL ET ROLE DE L'INNERVATION VAGALE DANS LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE

Les recherches histologiques et biologiques (166, 411) ont montré que l'alcool à faible concentration n'a pas d'effet ulcérogène très marqué c'est-à-dire qu'il ne provoque pas de lésions de la couche cellulaire sécrétrice; de plus on sait également que dans ces conditions il peut augmenter la sécrétion gastrique et il est alors permis de penser que l'éthanol pourrait agir par ses propriétés propres sur la cellule pariétale ainsi que l'ont suggéré WEISE et coll. (471), HIRSCHOWITZ et coll. (210) et DAVES et coll. (107) ; il est connu en effet que l'alcool peut modifier l'état physiologique des cellules (248) comme la perméabilité et l'élasticité cellulaire (343) ce qui entraînerait par exemple des variations de la plasmolyse ou de la turgescence changeant ainsi le débit sécrétoire. Dans cette même hypothèse il est possible que l'alcool circulant ait une certaine action sur la cellule puisque l'éthanol administré par voie orale est très rapidement absorbé ; ainsi, sa présence dans le sang qui irrigue l'estomac peut-elle agir directement et d'une manière précoce mais peut-être discontinue sur la sécrétion.

Par ailleurs il ne faut pas dissocier le rôle du nerf vague de ce phénomène car si l'on admet que l'alcool a une action directe, même partielle, sur la cellule, c'est que l'innervation n'est pas indispensable au moins dans cette partie du mécanisme. Or l'influence du nerf vague dans le mécanisme n'est pas établi avec précision et les observations de nombreux auteurs sont souvent contradictoires ; ainsi ORBELI (361) a noté une légère diminution de l'hypersécrétion alcoolique des poches gastriques chez le Chien après la dénervation tandis que CODE (88) a remarqué une augmentation dans des conditions à peu près semblables. HIRSCHOWITZ et coll. (210) ont déterminé chez l'Homme, les effets de l'atropine, de l' hexamethonium et de la vagotomie sur la sécrétion gastrique après un traitement alcoolique et ont admis que le nerf vague est indispensable dans ces

conditions, pour conduire l'excitation venant des zones centrales comme il le fait au cours de l'hypoglycémie.

Par contre WOODWARD et coll. (483) ont observé chez le Chien que l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol administré par voie veineuse n'est pas modifiée par l'absence d'innervation nerveuse extrinsèque, antrale et intestinale, ce que IRVINE et coll. (225) pensent également. Enfin ELWIN (135) a montré que les courbes d'évolution du pH du suc gastrique sont presque identiques après une stimulation alcoolique ou vagale.

L'étude d'une action directe de l'éthanol sur la cellule pariétale doit donc être associée au rôle éventuel du nerf vague dans le mécanisme de l'hypersécrétion. En effet, si l'alcool a une action locale, l'innervation parasympathique n'aura que peu d'influences et c'est la raison pour laquelle nous avons recherché l'effet de l'alcool sur la sécrétion gastrique lorsque l'estomac est totalement dénervé afin de rechercher d'une part l'existence de l'hypersécrétion dans de telles conditions, d'autre part l'influence du nerf vague dans le mécanisme général. Dans ce but nous avons utilisé deux méthodes d'études de la sécrétion gastrique :

- l'estomac isolé où l'alcool peut être directement au contact de la muqueuse qui n'est sous aucune influence du système nerveux central.

- la perfusion " in situ " de l'estomac de rat sur lequel on peut pratiquer une section des nerfs vagues.

I- TECHNIQUES.

A. Estomac isolé.

Nous avons utilisé 85 rats Wistar, mâles, adultes, d'un poids moyen de 280 à 300 g dont l'estomac isolé a été préparé selon la technique présentée dans le chapitre des méthodes pages 26 à 28) et nous avons étudié l'évolution du pH du milieu d'incubation au cours du temps suivant deux modalités correspondant à des traitements différents.

Dans une première expérience, l'animal étant à jeun depuis 17 heures nous avons prélevé l'estomac et nous l'avons placé dans un milieu d'incubation contenant de l'éthanol aux concentrations suivantes : 100 mM; 200 mM; 1 M; 2M; 4M; de cette manière la muqueuse gastrique est donc en contact direct avec la solution alcoolique et nous avons dosé par la méthode de WIDMARK (475) l'alcool éthylique présent à la fin de l'incubation.

Dans une deuxième expérience, l'éthanol a été administré à raison de 2 g par Kg de poids corporel en solution à 20 pour 100 (V/V) par voie œsophagienne à des rats au jeûne depuis 15 heures; nous avons prélevé l'estomac 15 sec., 15 mn ; 1 h , 2 h et 8 h après ce traitement de façon à déterminer si l'éthanol aurait " in situ " une action sécrétagogue à plus ou moins long terme sur la cellule gastrique responsable de la sécrétion acide. Dans les mêmes conditions, les animaux du lot témoin ont reçu une solution isocalorique de glucose.

Dans chaque cas les mesures ont été faites sur 4,5 ou 6 rats.

B. Perfusion de la cavité gastrique de rat vagotomisés.

1°- La vagotomie.

La vagotomie bilatérale a été réalisée sur 18 rats Wistar mâles adultes pesant environ 400 g au moment de l'opération.

Chez le Rat, la section des nerfs vagues au niveau de l'estomac est une intervention relativement facile, la difficulté étant surtout de repérer l'anatomie du système. La méthode chirurgicale que nous avons utilisée est celle décrite par LAMBERT (277) : une fois le rat anesthésié à l'éther, on épile la partie abdominale et on pratique une incision médiane à partir du sternum. L'estomac est alors tiré doucement vers la partie arrière de l'animal et isolé de toutes les adhérences mésentériques qu'il a avec le foie et la rate; l'opération proprement dite se fait en trois étapes successives :

a) Section du nerf vague gauche . Lorsque l'estomac a été isolé, on identifie le nerf vague gauche le long de l'œsophage au dessous du diaphragme. Au moyen de pinces fines que l'on passe entre la paroi œsophagienne et le tronc nerveux gauche on isole le nerf sur une longueur de 15 mm environ que l'on ligature avec un fil; le nerf est alors coupé en deux endroits et on enlève un segment d'un centimètre.

b) Section du nerf vague droit : Le nerf vague droit est beaucoup moins visible que le précédent et cette étape doit donc être réalisée avec davantage de précautions pour séparer les structures autres que l'œsophage et le tronc artério-veineux ; on dissèque d'abord l'artère et la veine gastrique et on isole les tissus de cette zone qui contient la couche séreuse péritonéale, le tronc nerveux et un peu de tissu gras; en faisant bien attention de ne léser ni l'artère ni la veine on retire comme précédemment un centimètre de ces tissus pour être sûr de

bien couper le nerf vague.

c) Contrôle de la vagotomie : Lorsque ces deux étapes sont terminées l'œsophage est soigneusement examiné de chaque côté et tous les tissus proches du péritoine qui semblent contenir des fibres nerveuses sont réséqués ; les parois de l'œsophage sont ainsi libérées de tous les tissus accessoires, si bien que l'estomac n'est retenu à ce niveau que par l'œsophage et les vaisseaux sanguins qui irriguent l'estomac.

La durée de l'opération est de l'ordre de dix minutes et il n'y a pratiquement pas de complications post-opératoires.

2° Protocole expérimental.

Trois heures après la fin de la vagotomie, l'animal est anesthésié au nembutal et préparé pour une perfusion gastrique selon la méthode décrite précédemment (pages 23et25). Sur le liquide recueilli à la sortie de l'estomac , nous avons titré l'acidité totale avec de la soude 0,001 N et mesuré l'activité peptique.

Le traitement alcoolique a été effectué par voie veineuse à la dose de 2 g par Kg de poids corporel, les animaux témoins recevant dans les mêmes conditions une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre.

II- RESULTATS.

A. Estomac isolé.

1° - En présence d'un milieu d'incubation contenant de l'éthanol.

La première observation que nous pouvons faire est que l'estomac isolé qui baigne dans un milieu d'incubation contenant de l'éthanol à différentes concentrations donne une réponse sécrétoire qui varie selon cette concentration alcoolique. Nous avons indiqué sur le tableau n° 13 les valeurs de pH mesurées toutes les 15 minutes et nous avons observé que la teneur de 100 mM et 200 mM d'alcool éthylique dans le milieu ne modifie pas significativement l'évolution de la chute de pH par rapport au milieu témoin ne contenant pas d'alcool , comme on peut le voir également sur la figure n° 10 ; en effet le pH au temps 0 se situe entre 6,9 et 7,2 ce qui est un peu différent

TABLEAU N° 13

Evolution du pH du milieu d'incubation de l'estomac isolé, au cours du temps, en présence d'éthanol à différentes concentrations.

Traitement	Nbre de rats	0 mn	15 mn	30 mn	45 mn	60 mn	75 mn	90 mn	105 mn	120 mn	Δ pH 0mn-120mn	Δ pH 30mn-120mn
Témoin	6	6,98 ±0,02	6,42 ±0,02	6,08 ±0,08	5,79 ±0,18	5,07 ±0,36	4,36 ±0,46	3,81 ±0,45	3,51 ±0,35	3,21 ±0,28	3,77 ±0,27	2,86 ±0,21
EtOH 100 mM	4	7,00 ±0,05	6,57 ±0,01	6,30 ±0,05	5,88 ±0,16	5,13 ±0,49	4,28 ±0,47	3,62 ±0,28	3,27 ±0,19	3,03 ±0,15	3,97 ±0,15	3,27 ±0,10
EtOH 200 mM	4	6,92 ±0,02	6,77 ±0,07	6,55 ±0,15	6,27 ±0,17	5,95 ±0,30	5,22 ±0,52	4,52 ±0,72	3,50 ±0,40	3,32 ±0,22	3,60 ±0,25	3,22 ±0,07
EtOH 1 M	4	7,00 ±0,20	6,65 ±0,35	6,65* ±0,25	6,65* ±0,15	6,55* ±0,15	6,38* ±0,12	6,28* ±0,12	6,15* ±0,25	5,85** ±0,30	1,15** ±0,10	0,80** ±0,05
EtOH 2 M	4	7,21 ±0,10	6,79*** ±0,07	6,72** ±0,09	6,61** ±0,08	6,52** ±0,06	6,37** ±0,04	6,34*** ±0,02	6,22*** ±0,04	6,15*** ±0,04	1,06*** ±0,10	0,57*** ±0,09
EtOH 4 M	5	7,00 ±0,01	6,92*** ±0,02	6,90** ±0,05	6,75* ±0,01	6,70* ±0,01	6,65* ±0,05	6,60* ±0,01	6,55** ±0,05	6,52*** ±0,07	0,48*** ±0,07	0,38*** ±0,02

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$

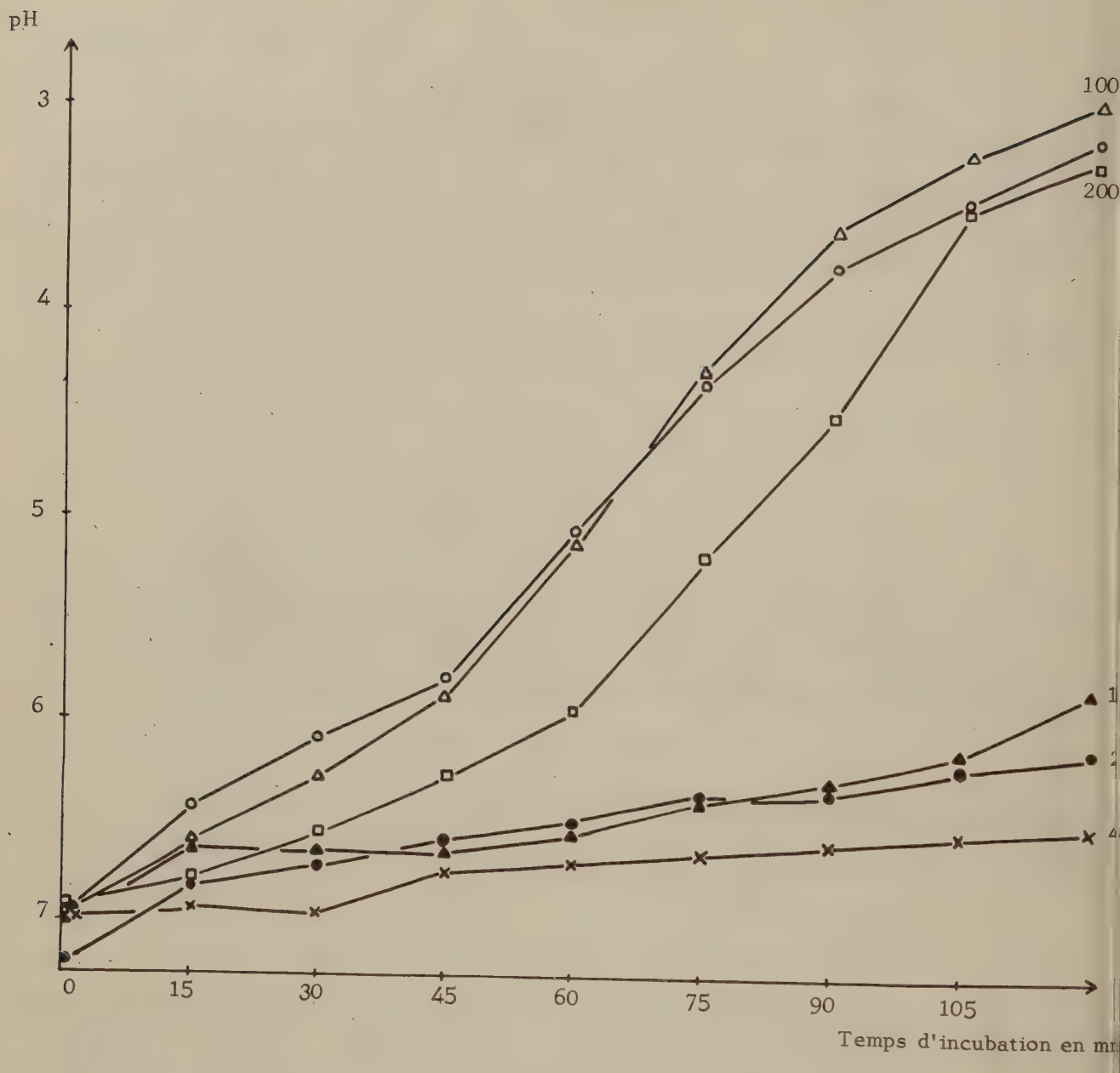


FIGURE N° 10 - Evolution du pH du milieu d'incubation de l'estomac isolé, au cours du temps en présence d'éthanol à différentes concentrations.

du pH du milieu d'incubation parce que cette valeur a été prise une fois que l'estomac se trouve en présence de la solution ; le pH mesuré deux heures après, est de 3,21 pour les témoins, 3,03 avec 100 mM d'éthanol, et 3,32 avec 200 mM sans que les variations soient statistiquement significatives ; ces résultats s'opposent, semble-t-il, à ceux trouvés précédemment, c'est à dire que dans ces conditions de mesure on n'observe pas d'hyperacidité significative de l'estomac isolé en présence de concentrations relativement faibles d'éthanol. Comme nous le verrons ultérieurement cela peut être expliqué par le manque de précision des mesures de pH dont les variations sont parfois assez grandes. Le calcul des tests statistiques peut d'ailleurs être ici critiquable car les valeurs sur lesquelles on le réalise ne sont que des variations et non pas une quantité réelle d'acide ; cependant les différences de pH entre 0 et 120 minutes ne donnent pas non plus de résultats significatifs.

Par contre lorsque l'estomac isolé a été placé dans un milieu d'incubation contenant une plus forte proportion d'éthanol nous avons noté une inhibition de la formation d'acide. Cette inhibition parait de plus être en relation avec la quantité d'éthanol ; en effet aux concentrations de 1 M, 2 M et 4 M d'alcool nous avons observé respectivement à la fin de l'expérience un pH de 5,85 , 6,15 et 6,52 et par rapport aux témoins la signification est de plus en plus élevée ; on retrouve cela lorsqu'on calcule la variation de pH entre 0 et 120 minutes ou entre 30 et 120 minutes d'incubation , ce qui est normal puisque au temps 0 le pH n'est pas significativement différent. Il faut ajouter qu'une concentration de 4 M inhibe pratiquement toute production d'acide par l'estomac isolé puisque la différence entre 0 et 120 minutes est inférieure à une demie unité pH.

Nous avons par ailleurs mesuré la quantité d'éthanol que l'on retrouve à la fin de l'expérience et pour cela nous avons dosé l'éthanol d'une part dans le milieu d'incubation lui-même et d'autre part dans le liquide contenu à l'intérieur du sac stomacal, et nous avons reporté dans le tableau n° 14 le pourcentage d'éthanol présent au bout de 120 minutes par rapport à la quantité mise au départ ; nous pouvons voir qu'il reste 32,9 pour 100 d'éthanol lorsque la concentration est de 100 mM et environ 50 pour 100 lorsqu'elle est plus élevée, sans que l'on ait pu mettre en évidence une proportion nette entre l'alcool retrouvé et la concentration initiale; il y a donc une grande quantité d'éthanol qui disparait et nous avons aussi mesuré son évaporation dans les mêmes conditions de température , d'agitation et d'oxygénation à partir de solutions semblables à celles utilisées dans l'expérience mais sans mettre d'estomac isolé dans le milieu ; nous avons noté que cette évaporation est globalement de 42,1 $\pm$ 6,7 pour 100 c'est à dire qu'il reste 57,9 $\pm$ 6,7 pour 100 dans le milieu , par rapport à la quantité initiale.

TABLEAU N° 14

Ethanol retrouvé après deux heures d'incubation de l'estomac isolé baignant dans un milieu alcoolique.

Concentration d'éthanol dans le milieu d'incubation au temps 0	Pourcentage d'éthanol retrouvé après 120 mn d'incubation
Témoin	-
EtOH 100 mM	32, 9 ± 2, 8 %
200 mM	47, 9 ± 12, 7 %
1 M	39, 7 ± 8, 0 %
2 M	47, 7 ± 3, 5 %
4 M	49, 8 ± 6, 7 %
milieu d'incubation sans estomac	57, 9 ± 6, 7 %

2°- Après un traitement alcoolique du Rat "in vivo".

Le tableau n.° 15 indique les valeurs de pH que nous avons obtenues au cours de l'incubation de l'estomac isolé des rats auxquels on a préalablement administré en intubation œsophago-gastrique, soit une solution éthanolique soit une solution glucosée. Les animaux ont été sacrifiés à différentes périodes après le traitement et nous avons comparé statistiquement les résultats des rats témoins et des rats traités pour chaque temps. Dans ces conditions nous pouvons voir que la diminution du pH n'est pas significativement différente lorsque l'estomac est prélevé 15 secondes après l'administration ; en effet après 120 minutes d'incubation le pH est de 3,86 ± 0,27 chez les rats traités et de 3,55 ± 0,19 chez les rats témoins. Mais lorsque les animaux sont sacrifiés 15 minutes après le traitement, nous avons observé que le pH du milieu d'incubation des estomacs isolés des rats alcooliques est significativement plus élevé que chez les rats témoins ($P < 0,05$) ce qui signifie qu'il y a donc moins d'acide produit ou libéré dans ces conditions précises.

TABLEAU N° 15

Evolution du pH du milieu d'incubation de l'estomac isolé de rat préalablement traité " in vivo " soit par une dose de 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel, soit par une solution isocalorique de glucose.

Durée entre le traitement alcoolique et le sacrifice de l'animal		Nbre d'animaux	Evolution du pH au cours du temps d'incubation									Δ
			0	15 mn	30 mn	45 mn	60 mn	75 mn	90 mn	105 mn	120 mn	0-120 mn
15 secondes	Traités	5	7,02 ± 0,05	6,90 ±0,03	6,72 ±0,05	6,45 ±0,07	6,14 ±0,13	5,57 ±0,29	4,84 ±0,39	4,30 ±0,31	3,86 ±0,27	3,16 ±0,26
	Témoins	5	7,02 ±0,04	6,76 ±0,07	6,60 ±0,03	6,36 ±0,04	6,04 ±0,13	5,40 ±0,41	4,71 ±0,45	4,05 ±0,31	3,55 ±0,19	3,47 ±0,20
15 minutes	Traités	6	7,00 ±0,03	6,91 ±0,06	6,66 ±0,09	6,40 ±0,15	5,95 ±0,47	5,63 ±0,54	5,20 ±0,53	4,59* ±0,47	4,01* ±0,34	2,99* ±0,34
	Témoins	6	7,02 ±0,01	6,79 ±0,06	6,51 ±0,10	6,26 ±0,09	5,92 ±0,09	4,96 ±0,24	3,95 ±0,15	3,40 ±0,08	3,15 ±0,06	3,87 ±0,06
1 heure	Traités	6	6,90 ±0,06	6,77 ±0,07	6,60 ±0,07	6,35 ±0,10	5,98 ±0,16	5,50 ±0,29	4,90 ±0,36	4,40 ±0,32	3,85 ±0,18	3,05 ±0,13
	Témoins	6	7,01 ±0,02	6,94 ±0,09	6,67 ±0,13	6,35 ±0,19	5,72 ±0,39	5,06 ±0,62	4,64 ±0,66	4,15 ±0,58	3,69 ±0,46	3,32 ±0,45
2 heures	Traités	6	6,92 ±0,04	6,74 ±0,09	6,50 ±0,09	6,06 ±0,16	5,37 ±0,33	4,42 ±0,38	3,93 ±0,31	3,50 ±0,18	3,27 ±0,14	3,65 ±0,11
	Témoins	6	6,83 ±0,07	6,73 ±0,15	6,50 ±0,13	6,10 ±0,25	5,35 ±0,85	4,80 ±0,88	3,98 ±0,58	3,48 ±0,42	3,20 ±0,35	3,63 ±0,38
8 heures	Traités	5	6,82 ±0,04	6,67 ±0,01	6,51 ±0,05	6,24 ±0,15	5,81 ±0,29	5,21 ±0,50	4,51 ±0,52	3,85 ±0,33	3,36 ±0,24	3,46 ±0,24
	Témoins	5	6,86 ±0,09	6,65 ±0,02	6,44 ±0,08	6,15 ±0,13	5,61 ±0,33	4,94 ±0,55	4,50 ±0,63	4,25 ±0,65	3,75 ±0,49	3,11 ±0,55

* $P < 0,05$

Par contre lorsque nous avons prelevé les estomacs au delà de temps plus longs compris entre une heure et huit heures après l'administration d'alcool, nous n'avons observé aucune variation significative par rapport aux témoins , et de même nous n'avons noté aucune modification de la différence de pH entre le début et la fin de la période d'incubation.

B. Perfusion de la cavité de l'estomac de rats vagotomisés.

Nous pouvons voir sur le tableau n° 16 que la sécrétion acide de la cavité de l'estomac perfusé de rats vagotomisés est de 1,20 ± 0,20 µ Eq HCl par 15 minutes avant les injections de solutions d'éthanol ou de chlorure de sodium;or nous avons vu dans le chapitre précédent que cette même sécrétion est de 2,34 ± 0,41 µ Eq HCl par 15 minutes chez les rats normaux;comme ces deux expériences ont été réalisées l'une immédiatement après l'autre et au moyen de rats du même lot,nous avons pu comparer statistiquement cette sécrétion de base;la valeur du t est de 2,542 et le degré de liberté est 118 dans ce cas ,car nous avons utilisé chaque valeur basale de chaque rat;ce résultat indique que la sécrétion acide de l'estomac est statistiquement plus faible ($P < 0,05$) chez les rats vagotomisés que chez les rats normaux.

Après l'injection intraveineuse d'éthanol, l'acidité augmente chez les rats vagotomisés pour atteindre un maximum de 3,39 ± 1,31 µ Eq soit 2,8 fois la sécrétion de base. En comparant avec les résultats du chapitre précédent obtenus avec des rats normaux, on peut faire trois observations : d'abord l'augmentation de la sécrétion acide se fait dans le même rapport, ensuite le maximum est atteint dans les deux cas en 45 minutes, enfin si le retour à la sécrétion de base est terminé au bout d'environ 1 h 45 chez les rats normaux, il n'en est pas de même chez les animaux vagotomisés pour lesquels les valeurs de base ne se retrouvent qu'au bout de 2 h 30 (figure n° 11). Comme précédemment nous avons calculé pour chaque rat les surfaces des courbes correspondant à la sécrétion acide consécutive au traitement, c'est à dire dans ce cas, pour les 150 minutes pendant lesquelles nous avons fait les mesures. Les résultats que nous avons portés dans le tableau n° 17 indiquent que la surface est de 11, 87 ± 2,69 cm^2 pour les rats vagotomisés témoins et de 19,48 ± 2,44 cm^2 après le traitement éthanolique ; le test de t nous a montré que l'augmentation est significative ($P < 0,05$), c'est à dire que l'alcool éthylique augmente significativement, dans nos conditions, l'acidité gastrique de rats vagotomisés.

La sécrétion basale de pepsine par l'estomac perfusé des rats qui ont les nerfs vagues sectionnés est de 1,10 ± 0,12 mg de pepsine (titre 200) par 15 minutes comme il est indiqué dans

TABLEAU N° 16

Effets d'une injection intraveineuse d'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rats vagotomisés.

	Sécrétion de base			Injection	Sécrétion après traitement									
					15 mn	30 mn	45 mn	60 mn	75 mn	90 mn	105 mn	120 mn	135 mn	150 mn
ACIDITE en µ Eq HCl / 15 mn	Moyenne : 1,20 ± 0,20													
Témoins (9 animaux)	1,10 ±0,38	1,35 ±0,52	1,15 ±0,44	NaCl 9 p. 1000	1,28 ±0,41	1,33 ±0,54	1,06 ±0,30	1,31 ±0,55	1,12 ±0,31	1,28 ±0,40	1,15 ±0,36	1,03 ±0,30	1,38 ±0,50	1,02 ±0,30
Traités (9 animaux)	1,37 ± 0,55	1,03 ±0,34	1,20 ±0,42	EtOH 2 g / Kg	1,21 ±0,33	2,21 ±0,86	3,39 ±1,31	2,61 ±1,13	2,52 ±1,28	2,31 ±1,20	2,21 ±1,14	1,82 ±0,89	1,71 ±0,30	1,50 ±0,63
PEPSINE en mg(t.200) par 15 mn	Moyenne : 1,10 ± 0,12													
Témoins (9 animaux)	1,27 ±0,39	0,88 ±0,13	1,23 ±0,40	NaCl 9 p. 1000	0,90 ±0,21	1,20 ±0,36	0,72 ±0,17	1,13 ±0,31	0,83 ±0,20	0,98 ±0,22	0,37 ±0,30	0,94 ±0,25	1,26 ±0,29	0,95 ±0,14
Traités (9 animaux)	0,96 ± 0,20	1,11 ±0,16	1,13 ±0,30	EtOH 2 g / Kg	1,17 ±0,29	1,27 ±0,37	2,17 ±0,51	1,75 ±0,45	1,73 ±0,31	1,27 ±0,27	1,08 ±0,21	1,02 ±0,11	1,00 ±0,15	0,98 ±0,15

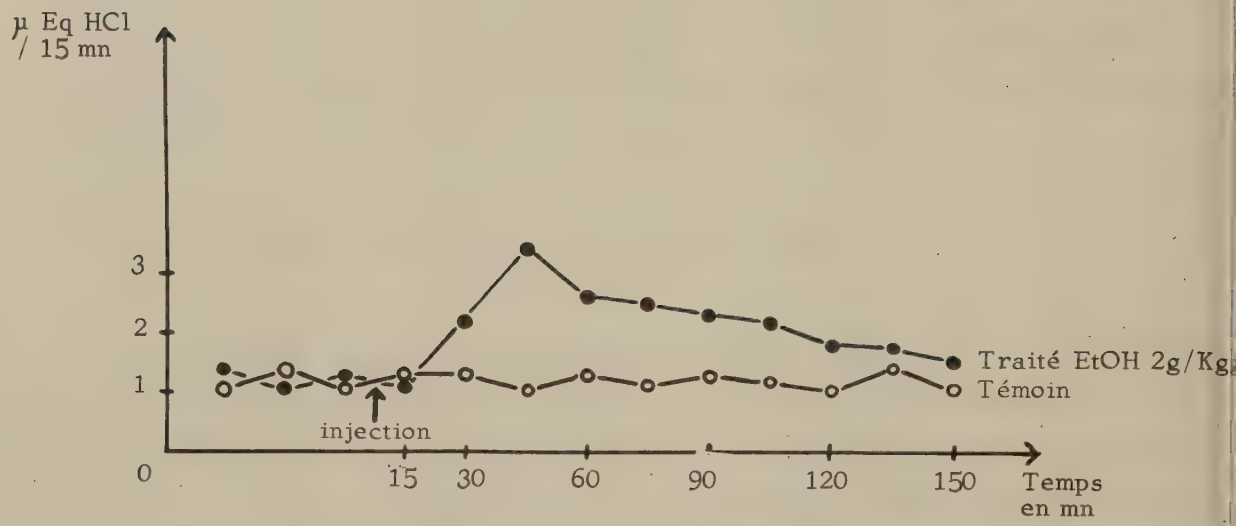


FIGURE N°11- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion acide de l'estomac perfusé de rats vagotomisés.

TABLEAU N° 17

Effets d'une injection intraveineuse d'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rats vagotomisés.

(Les valeurs exprimées sont les aires des courbes correspondant à la sécrétion acide et à l'activité peptique globale pendant 150 minutes après le traitement).

1°) ACIDITE

rats témoins ---------- 11,87 cm^2 ± 2,69)
(P < 0,05
rats traités ---------- 19,48 cm^2 ± 2,44)

2°) PEPSINE

rats témoins ---------- 42,22 cm^2 ± 8,50)
(N.S.
rats traités ---------- 59,98 cm^2 ± 10,98)

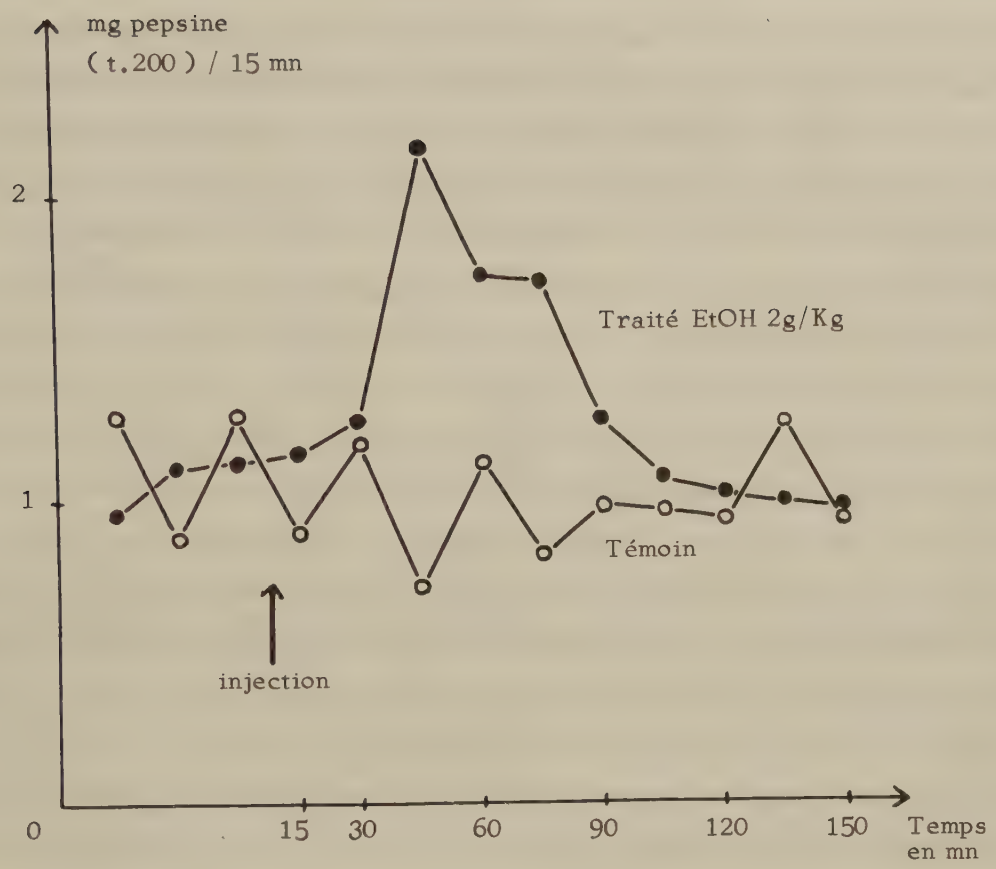


FIGURE N° 12 - Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion pepsique de l'estomac perfusé de rats vagotomisés.

le tableau n° 16 et sur la figure n° 12 , de telle sorte que cette valeur n'est pas statistiquement différente de celle observée chez des animaux normaux. L'injection intraveineuse d'éthanol provoque une augmentation de l'activité pepsique du perfusat qui atteint 2,17 mg après 45 minutes soit presque le double de la sécrétion de base ; il faut noter par ailleurs que l'hyperactivité n'est maintenue que pendant 105 minutes , c'est à dire pendant une durée plus courte que l'augmentation de l'acidité. Le test de t effectué sur les aires correspondantes (tableau n° 17) ne nous a pas donné de résultats statistiquement significatifs, probablement à cause des variations individuelles mais sur les 10 rats étudiés , 9 ont cependant montré une augmentation très nette de l'activité pepsique.

TABLEAU N° 18

Corrélations entre l'acide et la pepsine de l'estomac perfusé de rats vagotomisés, sécrétés dans l'heure immédiatement consécutive soit à l'injection d'une solution de chlorure de sodium à 9 g pour 1(soit à l'injection d'une solution à 40 pour 100 d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel).

	TEMOINS n = 36	TRAITES n = 36
r	0, 66	0, 47
t	5, 130	3, 113
P	P < 0, 001	P < 0, 01
F	25,61 (1 p. 100)	9, 70 (1 p. 100)
Equation de la droite	$y=(0,40 x \pm 0,08)+(0,45 \pm 0,10)$	$y=(0,20 x \pm 0,06)+(1,15 \pm 0,15)$

L'étude de la corrélation entre l'acide (x) et la pepsine (y) sécrétés dans l'heure immédiatement consécutive à l'injection d'une solution d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) ou d'une solution de chlorure de sodium à 9 g pour 1000 (volume équivalent), nous a permis d'observer que l'acidité et la pepsine sont significativement liées ; comme il est indiqué dans le tableau n° 18, le calcul de l'équation des droites de régression montre en effet que les pentes de ces droites sont différentes selon le traitement : après l'injection de la solution alcoolique la pente est 0,20 tandis que chez les animaux témoins elle est égale à 0,40.

III - DISCUSSION.

A. Estomac isolé.

1°- En présence d'un milieu d'incubation contenant de l'éthanol.

Lorsque l'éthanol se trouve dans le milieu d'incubation de l'estomac isolé, il est permis de penser que son action , si elle existe, sera essentiellement locale, c'est à dire qu'il agira

directement sur la cellule pariétale ou principale. Les résultats obtenus , comme nous l'avons déjà noté, montrent un phénomène double selon que l'alcool se trouve à faible ou forte concentration.

Si le milieu d'incubation contient peu d'alcool nous avons vu que la chute du pH est égale ou légèrement supérieure à celle observée chez les témoins ; or l'éthanol à de telles concentrations peut cependant avoir des effets physicochimiques sur la cellule ou le milieu (249) : c'est ainsi que KNUTSSON (263) a trouvé que des concentrations alcooliques de 2,3 et 4,6 pour 100 augmentent respectivement de 10 et 16 pour 100 la résistivité d'une solution de Ringer ; il pense que cette action est une manifestation de la diminution de la constante diélectrique car l'éthanol ralentit le mouvement des ions dans un champ électrique. Il a été noté également que l'alcool pourrait exercer une pression osmotique puisqu'il diminue le point de congélation de l'eau et des liquides biologiques mais MACARULLA et MENDIA (305) indiquent que cela ne prouve pas un effet osmotique dans un système biologique tel que celui que nous avons employé. Cependant la membrane cellulaire laisse passer un certain nombre de composés solubles dans l'eau, et l'alcool qui pénètre presque aussi facilement que l'eau pourrait avoir une action osmotique, ne serait-ce que pendant la période précédant l'équilibre. Dans ces conditions le problème de l'effet de l'éthanol sur les phénomènes de perméabilité cellulaire ne manque pas de se poser ; la plupart des observations (391 , 467) suggèrent que l'alcool facilite la pénétration de certaines substances (312) ou ions en modifiant par exemple la conductivité électrique (205) ou le transport actif des ions (227) ; par ailleurs, GEALL et coll. (161) ont observé chez l'Homme que l'éthanol diminue rapidement et fortement la différence de potentiel de la muqueuse gastrique ; cet effet est rapproché par ces auteurs de l'agression de cette substance sur l'estomac car la différence de potentiel de la muqueuse (464) influence la sécrétion acide (16) et ils pensent que ces caractéristiques doivent être prises en considération pour expliquer au moins partiellement l'actionde l'alcool au niveau de l'estomac. De toute manière dans les conditions expérimentales où nous nous trouvons, nous n'avons pas noté de modifications sécrétoires importantes ce qui peut indiquer que les modifications physicochimiques sur la cellule ne sont pas prédominantes lorsque l'éthanol est à faible concentration.

A forte concentration par contre nous avons observé un ralentissement de la production acide par rapport aux témoins et ce résultat peut être expliqué par des effets physicochimiques différents des précédents, tels que la dénaturation protéique, la déshydratation, l'altération de l'absorption et la diminution de la tension superficielle ; WALLGREN (467) a étudié par exemple l'interaction entre certains détergents et l'éthanol dans les tissus nerveux et les hématies et il

a observé que seuls quelques uns avaient une action synergique avec l'alcool alors que tous dimi nuent par définition la tension superficielle. Dans ces cas aussi, nous sommes donc en présence de causes multiples mais nous pensons que dans nos conditions les fortes concentrations d'éthano altèrent progressivement les structures protéiques de la cellule et inhibent ainsi la sécrétion de l'estomac. Nous pouvons alors rapprocher nos résultats de ceux de NELEMANS (348) et de SACHDEV et coll. (398) qui ont étudié l'action de l'éthanol sur le muscle " rectus abdominis" de la Grenouille ; ces auteurs pensent qu'à faible concentration, l'alcool serait ionisé alors qu'à haute concentration il provoque une irritation du muscle et une précipitation des protéines que l'on peut observer à des concentrations de 1 M, 2 M et surtout de 4 M.

Par ailleurs nous avons observé que la quantité d'éthanol diminue beaucoup dans le milieu d'incubation puisque l'on n'en retrouve que de 30 à 50 pour 100 environ à la fin de l'expérience ; la forte évaporation dans nos conditions est probablement due à l'agitation provoquée par le passage de l'oxygène, mais ceci n'explique pas totalement la disparition de l'alcool, sauf peut-être à forte concentration; en effet lorsque le milieu d'incubation contient 100 mM d'éthanol, il y a presque un quart de la quantité que l'on ne retrouve pas dans le milieu d'incubation et qui ne s'explique pas par l'évaporation (voir le contrôle témoin) ; on peut alors supposer que l'estomac est le siège d'une certaine oxydation alcoolique, d'autant plus qu'à forte concentration où les enzymes sont probablement détruites, la somme des quantités d'éthanol retrouvé et d'éthanol évaporé représente sensiblement la quantité totale de départ.

2°- Après un traitement alcoolique du rat "in vivo".

Le traitement alcoolique du rat par voie œsophagienne n'entraîne que peu de variations sécrétoires de l'estomac isolé de l'animal sacrifié après un temps plus ou moins long. Comme nous l'avons vu, la seule différence observée est une diminution de la sécrétion acide lorsque l'estomac a été prélevé 15 minutes après l'absorption d'éthanol. Bien que l'on n'ait pas observé de modifications macroscopiquement visibles de la muqueuse, cette diminution est probablement due à une action de l'alcool telle que celle observée dans l'expérience précédente. En effet lorsque les animaux sont sacrifiés 15 secondes après le traitement alcoolique on peut penser que l'alcool n'a pas pu agir dans un temps aussi court sur la cellule pariétale ; le mucus en effet protège au moins partiellement les couches de cellules sécrétrices (106) et réduit l'effet irritant de l'alcool. Par contre lorsque le prélèvement de l'estomac a lieu une heure, deux heures ou huit heures après le traitement, il est probable que les structures cellulaires sont restaurées et que

l'estomac a repris ses fonctions sécrétoires normales. Il faut noter par ailleurs que l'éthanol est administré à la dose de 2 g par Kg de poids corporel en solution à 20 pour 100, ce qui représente une quantité relativement élevée d'autant plus que les animaux sont au jeûne.

3°- Conclusion.

L'étude de l'effet local de l'éthanol sur la cellule pariétale ne nous a pas donnée de résultats très clairs et il semble même que ce facteur soit relativement faible dans l'hypersécrétion consécutive au traitement alcoolique. Nous avons observé en effet que de faibles quantités d'éthanol, approximativement équivalentes à une ingestion d'une solution de l'ordre de 0,5 ou 1 pour 100, provoquent une légère diminution de pH mais que des concentrations moyennes ou fortes d'un point de vue pharmacologique amènent une destruction cellulaire entraînant une diminution sécrétoire ; il faut cependant remarquer que les conditions expérimentales utilisées dans ce type d'expérience "in vitro" sont assez défavorables à une défense de l'organisme si l'on considère que l'alcool peut altérer la muqueuse ; en effet l'estomac isolé n'a que très peu de réserves énergétiques ou métaboliques à sa disposition et les substances ajoutées au milieu d'incubation ne font que maintenir la survie cellulaire. Ainsi lorsque le mucus est précipité, est-il très difficile de voir apparaître une synthèse suffisamment rapide pour être efficace ; il en est de même d'une part pour la multiplication cellulaire en cas de lésion d'autre part pour la sysnthèse de pepsine comme nous le verrons plus loin puisque dans ce cas aussi le matériel nécessaire à ces phénomènes ne se trouve que dans la muqueuse c'est à dire en petite quantité ; la réponse sécrétoire de l'estomac isolé permet donc une étude intéressante mais dans ces conditions les cellules sont plus "fragiles" que lorsque l'estomac est alimenté "in situ" par un flux sanguin nutritif.

B. Perfusion de la cavité gastrique de rats vagotomisés.

1°- Effet de la vagotomie sur la sécrétion acide.

La diminution de la sécrétion acide chez le Rat vagotomisé est une caractéristique connue qui a été surtout étudiée après la ligature du pylore. C'est ainsi que de nombreux auteurs dont SHAY et coll.(422),HARKINS et coll.(201) et MADDEN et coll.(310), ont observé une diminution de l'acidité libre, de l'acidité totale et du volume sécrétoire chez le Rat mais ces résultats ont été également décrits chez le Chien (19) et chez l'Homme (165). En plus de ces effets inhibiteurs de la sécrétion, la vagotomie entraîne aussi une distension gastrique considérable (223) et une augmentation du poids de l'estomac (122). Mais le fait sans doute le plus important est que le nerf

vague contrôle seul la phase céphalique de la sécrétion gastrique et il est dont clair que cette phase peut être abolie par la vagotomie. Dans ces conditions les facteurs qui agissent sur la phase céphalique de la sécrétion gastrique n'ont plus d'effet sécrétoire lorsque le nerf vague est sectionné. C'est le cas par exemple de l'hypoglycémie déclenchée soit par l'insuline (245) soit par des hypoglycémiants (472) soit par le 2 - deoxy- D - glucose (212) qui entraîne normalement par voie vagale une augmentation de la sécrétion gastrique mais qui est supprimée après une vagotomie. Or il a été montré que l'alcool éthylique entraîne des modifications du métabolisme glucidique comme nous l'avons mentionné précédemment et provoque en général une hypoglycémie chez le Rat, le Chien et l'Homme (160, 311, 444). Ceci est d'autant plus intéressant qu'il est permis de penser que cette hypoglycémie induite par l'éthanol puisse stimuler les chimiorécepteurs spécifiques de l'hypothalamus (93) entraînant ainsi indirectement l'augmentation de la sécrétion gastrique par l'intermédiaire du nerf vague bien que les relations hypothalamo-gastriques ne soient pas très systématiques (322). Cette hypothèse doit cependant être écartée dans nos conditions pour deux raisons : d'abord parce qu'avec les doses d'éthanol que nous avons généralement utilisées (2 g par kg de poids corporel), les variations de la glycémie sont chez le Rat de l'ordre de 10 pour 100 (444), c'est à dire trop faible pour induire une hyperacidité gastrique ; ensuite parce que nous avons observé que si la vagotomie diminue la sécrétion acide de base, elle n'empêche pas l'hypersécrétion consécutive à l'éthanol.

Nos résultats sont ainsi en accord avec ceux de GRAY et BACHRACH (174), WOODWARD et coll. (483), IRVINE et coll. (225), ELWIN (135) alors qu'au contraire HIRSCHOWITZ et coll. (210) pensent que l'action de l'alcool est centrale et qu'elle s'exerce par l'intermédiaire du nerf vague. Cette faible influence de la vagotomie sur une hypersécrétion gastrique est un phénomène assez spécial car il a été observé par exemple que, chez l'Homme, l'histamine est moins active lorsque les nerfs vagues sont sectionnés (46).

Par ailleurs il est connu que la stimulation vagale augmente la sécrétion acide par deux mécanismes , l'un par une stimulation cholinergique directe des glandes fundiques , l'autre par une libération de gastrine des glandes pyloriques (373). La vagotomie pourrait logiquement supprimer ces deux mécanismes et il a été recherché notamment les relations entre le nerf vague et la libération de gastrine ; en fait, bien que la vagotomie n'empêche pas la décharge gastrinique (15) la réactivité de l'antre normale est subordonnée à la stimulation des cellules à gastrine , à la fois par des arcs réflexes faisant intervenir le nerf vague et des réflexes au niveau des plexus intrapariétaux. Le plus souvent d'ailleurs, la question a été abordée d'une autre manière et on a recherché l'effet de la gastrine sur des sujets (239) ou des animaux vagotomisés (15) :

ANDERSON (15) indique que la section des nerfs vagues produit une réduction de 50 pour 100 de la réponse maximale à la gastrine, ce qui suggère que la gastrine requiert l'intégrité vagale pour avoir l'activité optimale. Inversement la stimulation cholinergique potentialise l'action de l'histamine et de la gastrine (184) et SHAPIRA (421) a suggéré la possibilité d'un mécanisme "synergique" dans lequel la stimulation vagale intensifie l'effet de la gastrine et vice-versa (299).

En définitive les résultats que nous avons obtenus indiquent que le nerf vague ne joue pas un rôle prépondérant dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol ; contrairement à ce pense HIRSCHOWITZ (210), l'éthanol n'agirait pas par voie centrale nerveuse mais plutôt par une action locale ou hormonale ce qui n'est pas empêché par la vagotomie.

2°- Effet de la vagotomie sur la sécrétion pepsique.

Bien que la stimulation du nerf vague soit le moyen classique d'augmenter la sécrétion de pepsine (68) l'effet de la vagotomie sur cette sécrétion pepsique normale a été peu étudié. Il semble que la dénervation n'entraîne pas de diminution de la concentration en pepsine du suc gastrique (66) alors qu'elle réduit de moitié environ l'hypersécrétion dûe à l'histamine ou à la gastrine (140). Dans nos conditions nous n'avons pas trouvé de modifications de la sécrétion de pepsine après la vagotomie par rapport à des animaux normaux, et on peut considérer que l'alcool provoque une hyperactivité pepsique indépendamment du nerf vague.

A notre connaissance d'ailleurs , le rôle de l'innervation vagale dans l'hyperactivité peptique n'a été que peu abordé(365) bien que cela puisse donner quelques renseignements sur le mécanisme normal ; en effet la gastrine et le nerf vague agissent séparement pour stimuler la pepsine (125) et DAVIDSON et coll. (109) ont montré que la sécrétion pepsique de poches dénervées dépend de l'intégrité antrale car l'antrectomie ou la dénervation antrale abolit la sécrétion ; de même chez l'Homme, KONTUREK et coll. (268) ont noté que la vagotomie réduit la réponse pepsique à l'histamine et à la pentagastrine.

3°- Conclusions.

En définitive il semble donc que chez le Rat l'innervation vagale n'ait pas d'influence majeure sur la libération normale de pepsine contrairement à ce que l'on observe sur la sécrétion acide ; de plus l'hyperactivité protéolytique du perfusat gastrique n'est pas modifiée par la vagotomie lorsque la stimulation est provoquée par l'éthanol administré par voie intraveineuse

car dans nos conditions, nous avons retrouvé dans l'ensemble la même capacité sécrétoire de pepsine, que l'animal ait ou non subi une vagotomie chirurgicale. Les droites de régressions semblent indiquer quant à elles que l'éthanol augmente davantage la sécrétion acide des rats vagotomisés que la sécrétion peptique sans que l'on puisse établir cela statistiquement pour les raisons énoncées plus haut.

En résumé les résultats que nous avons obtenus peuvent indiquer :

1°- que l'effet local de l'alcool éthylique est assez faible pour stimuler la sécrétion mais par contre qu'à des concentrations relativement élevées il inhibe ou abolit toute activité sécrétrice d'acidité, probablement par une dénaturation des protéines cellulaires.

2°- que l'innervation vagale n'est pas absolument indispensable dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol. Ceci indique que la stimulation n'est donc pas conduite par le nerf vague et que l'augmentation sécrétoire observée n'est pas le résultat d'excitations des zones hypothalamiques qui se répercuteraient sur l'estomac par voie nerveuse. Cela exclut également l'interférence des effets parallèles de l'alcool, comme l'hypoglycémie, et on est donc amené à penser à une autre action, de type hormonale par exemple pour expliquer l'effet de l'éthanol sur la sécrétion gastrique.

CHAPITRE II

ROLE DES INTERMEDIAIRES DE LA SECRETION GASTRIQUE DANS LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION PROVOQUEE PAR L' ETHANOL

I- EFFETS COMPARATIFS DE L'HISTAMINE, LA GASTRINE ET L'ETHANOL SUR LA SECRETION GASTRIQUE.

A. Perfusion de la cavité gastrique.

1°- Techniques.

2°- Résultats.

a - effets sur la sécrétion acide.
b - effets sur la sécrétion pepsique.
c - étude corrélative.

3°- Discussion

a - effets de l'histamine.
b - effets de la pentagastrine.
c - effets de l'éthanol.
d - comparaison.

B. Estomac isolé.

1° - Techniques.

2° - Résultats.

a - effets de l'histamine.
b - effets de la gastrine.
c - effets de l'éthanol.

3° - Discussion.

a - effets de l'histamine.
b - effets de la gastrine.
c - effets de l'éthanol.
d - comparaison.

C. Conclusions.

II- VARIATIONS DE LA TENEUR EN HISTAMINE ET EN GASTRINE DU TISSU GASTRIQUE.

A. Etude de l'histamine.

1° - Techniques.

a - les conditions expérimentales.
b - le dosage de l'histamine.
c - protocole expérimental.

2° - Résultats.

a - histamine de l'estomac, du foie et du duodénum.
b - histamine du suc gastrique.

3° - Discussion.

a - histamine de l'estomac, du foie et du duodénum.
b - histamine du suc gastrique.

4°- Conclusion.

B. Etude de la gastrine.

1° - Techniques.

a - conditions expérimentales.
b - extraction de la gastrine.
c - le dosage de l'extrait gastrique.

1) travaux antérieurs.
2) travaux personnels.
3) contrôle de la méthode de dosage.

2° - Résultats.

a - dosage de l'extrait gastrique.
1) par la méthode de la ligature du pylore.
2) par la méthode de la perfusion de la cavité gastrique.
b - dosage de la gastrine.

3° - Discussion.

4° - Conclusion.

III - EXCRETION URINAIRE DE L'HISTAMINE ET DE LA GASTRINE A LA SUITE D'UN TRAITEMENT ALCOOLIQUE.

A. Excrétion de l'histamine.

1° - Intoxication aiguë.

a - Techniques.
b - Résultats.
c - Discussion.

2° - Intoxication chronique.

a - Méthode et techniques.
b - Résultats.
c - Discussion.

3° - Conclusion.

B. Excrétion de la gastrine.

1° - Techniques.

2° - Résultats

3° - Discussion.

C. Discussion des résultats obtenus au sujet de l'excrétion urinaire de l'histamine et de la gastrine.

IV - CONCLUSIONS SUR LE ROLE DES INTERMEDIAIRES.

Chapitre II

ROLE DES INTERMEDIAIRES DE LA SECRETION GASTRIQUE DANS LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION PROVOQUEE PAR L'ETHANOL

De nombreux auteurs ont supposé et étudié l'intervention des intermédiaires de la sécrétion gastrique dans le mécanisme de l'augmentation acido-peptique provoquée par l'éthanol ; comme nous l'avons vu précédemment , c'est d'abord l'histamine qui a été présumée comme étant la substance médiatrice du phénomène mais les observations se rapportent plus à une analogie qu'à des preuves convaincantes de son rôle. Par la suite , après l'isolement de la gastrine et l'étude de son influence sur la sécrétion gastrique , on a pensé que cette substance pourrait être responsable de l'hypersécrétion. Les différents travaux qui se rapportent à ce type d'étude se sont d'ailleurs heurtés à quelques obstacles comme par exemple le dosage de l'hormone , ce qui n'a pas permis d'études systématiques. De plus l'effet respectif de l'histamine et de la gastrine dans la sécrétion gastrique normale est également très discuté et nous avons donc été amené à contrôler l'existence ou non du rôle hormonal de ces deux substances dans l'hypersécrétion gastrique due à l'éthanol.

D'une manière générale, MUTT et JORPES (346) ont défini une hormone gastrointestinale comme étant une substance extractible uniquement d'une partie du tractus gastrointestinal, et qui après transfert par voie sanguine influence l'activité d'un organe de la digestion. La preuve de l'existence de ce type d'hormone requiert plusieurs étapes que GROSSMAN (189) a ainsi résumé : d'abord la démonstration physiologique qu'un stimulus appliqué à une structure gastrointestinale modifie l'activité d'une autre portion du même organe ; puis la même démonstration physiologique que cet effet persiste après élimination de toutes les connections nerveuses entre le point d'application du stimulus et le tissu de réponse ; ensuite l'isolement à partir d'un

lieu d'application du stimulus, d'une substance qui imite l'action physiologique ; enfin l'identification chimique de la substance et la preuve de sa structure par synthèse.

La démonstration de l'influence d'un facteur hormonal ou humoral dans l'hypersécrétion induite par l'éthanol doit donc essayer de répondre aux conditions ainsi définies et en fait assez particulières car nous sommes en présence non pas d'une glande endocrine bien organisée mais d'une dispersion de cellules dans un tissu , cellules à fonction sécrétoire hormonale. Nous avons donc principalement tenté d'étudier les trois premiers critères de GROSSMAN (189) à savoir l'activité physiologique de la substance sur l'organe , la non-intervention du système nerveux et enfin le devenir ainsi que la caractéristique de la substance dans l'organisme. Ce sont les raisons pour lesquelles cette étude a été abordée sous plusieurs angles d'un point de vue technique , que nous présenterons successivement dans des paragraphes différents:

- dans une première partie , nous avons fait une étude comparative de l'effet de l'histamine , de la gastrine et de l'éthanol au moyen des techniques de perfusion de la cavité gastrique et d'estomac isolé.
- dans une deuxième partie , nous avons tenté de mesurer les variations de la teneur en histamine et en gastrine du tissu gastrique après un traitement alcoolique.
- enfin dans une troisième partie , nous avons recherché l'excrétion urinaire de ces deux substances.

I- EFFETS COMPARATIFS DE L'HISTAMINE, DE LA GASTRINE ET DE L'ETHANOL SUR LA SECRETION GASTRIQUE.

Dans les chapitres précédents nous avons observé d'une part que l'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel , par voie veineuse, augmente l'acidité et l'activité protéolytique de la cavité perfusée de l'estomac , d'autre part qu'il diminue à forte dose la sécrétion acide de l'estomac isolé alors qu'à faible dose , au contraire, il semble l'augmenter ; dans cette perspective , nous avons donc pensé qu'il serait interessant de poursuivre ce travail par une étude comparative des effets de l'éthanol, de l'histamine et de la gastrine pour nous permettre d'établir un rapprochement , s'il existe , entre l'une ou l'autre des substances sécrétagogues.

Pour rechercher la réponse sécrétoire de l'estomac stimulé par l'histamine , la

gastrine ou l'éthanol , nous avons eu recours à deux techniques d'étude de la sécrétion : la perfusion de la cavité gastrique et l'estomac isolé qui , en conjugant leurs avantages , permettent d'avoir une meilleure idée du phénomène étudié ; de plus il est toujours intéressant pour les mêmes raisons, d'utiliser une méthode "in vivo " et une méthode " in vitro ", d'autant plus que nous recherchons des effets comparatifs de substances sécrétagogues. Nous étudierons successivement les techniques employées et les résultats obtenus avec ces deux méthodes , avant de discuter l'ensemble du phénomène que nous avons observé.

A. Perfusion de la cavité gastrique.

Pour des raisons techniques nous avons utilisé dans cette expérience une préparation synthétique de pentagastrine à la place de la gastrine. La pentagastrine employée est un pentapeptide répondant à la formule suivante:

Amide de la Butyloxycarbonyl-β Alanyl-Tryptophanyl-1 Méthionyl-1 Aspartyl-1 Phénylalanine

Cette molécule dénommée également PEPTAVLON ou I.C.I. 50.123 * comprend donc les quatre acides aminés terminaux de la gastrine de GREGORY (181) et son poids moléculaire est de 768. Il a été montré que cette partie de la molécule possède toutes les propriétés physiologiques de la substance naturelle (32) et son utilisation est de plus en plus grande tant en clinique (314) que dans les travaux expérimentaux (267) car on évite ainsi les problèmes techniques complexes et couteux que représentent l'isolement ou la synthèse de la gastrine naturelle.

Sur une préparation d'estomac perfusé de Rat, BARRETT(32) a montré que le peptavlon possède la même activité sécrétoire que la gastrine mais qu'il est onze fois moins puissant sur une base molaire et quatre fois plus puissant sur une base pondérale en ce qui concerne l'acidité; par rapport à l'histamine, cet auteur à observé les mêmes effets en injectant 5 mg par Kg d'histamine et 128 µg par Kg de pentapeptide, et à un niveau de réponse maximum l'histamine est environ 80 fois moins active que le peptide synthétique si l'on tient compte des valeurs pondérales. Mais, et c'est ce qui nous intéresse, l'activité du peptavlon est qualitativement identique à celle

---

* Nous remercions les laboratoires AVLON de nous avoir procuré gracieusement les échantillons de PEPTAVLON nécessaires à notre travail.

de la gastrine et nous aurons donc seulement à utiliser des doses convenables de traitement.

1°- Techniques.

Nous avons employé 40 rats mâles de race Wistar, d'un poids moyen de 300 g au jeûne depuis 20 heures. L'anesthésie générale a été obtenue par une injection intrapéritonéale de 0,01 ml par 100 g de poids corporel d'une solution de nembutal à 6,5 pour 100. La préparation technique de l'animal a été réalisée dans les conditions décrites précédemment et nous avons perfusé l'estomac avec une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre passant à la vitesse de 0,2 ml par minute, les prélèvements étant faits toutes les 15 minutes. Après un temps de stabilisation, nous avons mesuré les sécrétions acide et peptique par les méthodes mentionnées dans le chapitre des techniques.

Nous avons fait quelques essais préliminaires pour déterminer les doses des substances étudiées à injecter afin d'obtenir une réponse gastrique du même ordre, et notre choix s'est fixé sur les valeurs suivantes : l'histamine sous forme bichlorydrate a été injectée à la dose de 1,40 mg par Kg de poids corporel en solution à 1 mg par ml de chlorure de sodium à 9 g pour 1000 ; la pentagastrine PEPTAVLON a été administrée à raison de 1,60 µg de poids corporel et la solution utilisée pour ce traitement contenait 0,8 µg par ml de chlorure de sodium à 9 g pour 1000. L'éthanol a été injecté à la dose de 2 g par Kg de poids corporel en solution à 50 pour 100 (V/V) dans du chlorure de sodium à 9g pour 1000. Il est à noter enfin que nous n'avons pas effectué dans cette expérience d'injection intraveineuse témoin d'une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre car nous avons considéré d'après les résultats précédents qu'elle est sans effet sur l'évolution de la sécrétion.

Le traitement a toujours été réalisé par voie intraveineuse, plus précisément par l'intermédiaire d'un cathéter placé dans une veine jugulaire de l'animal et la durée de l'injection a été mesurée pour être comprise entre 10 et 15 minutes. Les solutions utilisées ont été conservées au réfrigérateur à + 4° C, puis réchauffées à la température du laboratoire avant l'administration, mais elles ont été renouvellées chaque semaine.

Les animaux n'ont été utilisés que pour un seul traitement , c'est à dire qu'après le temps d'équilibre nécessaire ,nous avons mesuré la sécrétion de base pendant 90 minutes , puis nous avons fait une seule injection à chaque rat et nous avons analysé la réponse gastrique pendant les trois heures consécutives. On aurait pu cependant se servir d'un même animal pour plusieurs traitements bien que le retour à la sécrétion de base soit parfois lent et irrégulier d'un rat à

l'autre. Il aurait été préférable en effet de pouvoir réaliser sur le même animal l'injection de l'histamine , de la gastrine et de l'éthanol , car d'une part les variations individuelles auraient été ainsi éliminées , d'autre part les comparaisons ultérieures auraient été plus aisées ; cela n'a pas été possible pour des raisons d'anesthésie parce que nous avons été obligés d'utiliser le nembutal qui , comme nous l'avons expliqué précédemment , n'interfère pas en principe avec l'éthanol , mais qui n'assure qu'une période de sommeil relativement courte. Par ailleurs, nous avons observé que l'alcool éthylique administré par voie veineuse à la dose employée provoque à lui seul une certaine narcose pendant laquelle on aurait pu étudier d'abord la réaction sécrétoire qu'il entraine puis celle de l'histamine ou de la gastrine , mais avec un risque d'interférence. En définitive pour éviter toute superposition de phénomène , nous avons donc utilisé un nombre plus important d'animaux pour ne les soumettre qu'à un seul traitement dans des conditions expérimentales les plus proches possibles les uns par rapport aux autres. Au point de vue de la conduite de l'expérience , il faut signaler que tous les rats faisaient partie d'un groupe homogène et que les effets des substances étudiées n'ont pas été mesurés isolément; au contraire chaque animal a été choisi au hasard pour recevoir une des trois substances, également choisie au hasard.

La sécrétion acide a été mesurée en μ Eq d'H Cl par 15 minutes et l'activité protéolytique en mg de pepsine (t. 200) par 15 minutes. Nous avons par ailleurs calculé la corrélation entre ces deux sécrétions pendant une période de une heure après chaque traitement.

2°- Résultats.

a- Effets de l'histamine, de la pentagastrine et de l'éthanol sur la sécrétion acide de la cavité gastrique perfusée.

On peut noter sur le tableau n° 19 et les figures n° 13, 14 et 15 que la sécrétion acide de base est en moyenne de $1,57 \pm 0,07$ μ Eq d'H Cl par 15 minutes de perfusion dans les conditions présentes; la période pendant laquelle nous avons mesuré cette acidité basale est de 90 minutes et nous pouvons observer qu'elle est assez stable pour chaque lot pris individuellement.

L'injection d'histamine par voie intraveineuse entraîne une augmentation rapide puisque le maximum est atteint au bout de 30 minutes avec $4,27 \pm 0,68$ μ Eq d'H Cl par 15 minutes, soit plus du double par rapport à la période témoin; l'acidité diminue par la suite et l'on peut considérer que l'effet hypersécréteur de cette substance est terminé entre 75 et 90 minutes après

TABLEAU N° 19

Effet de l'injection intraveineuse d'histamine, de pentagastrine et d'éthanol sur la sécrétion de la cavité gastrique perfusée de rats normaux.

	Nbre d'animaux	Sécrétion de base						Traitement	Sécrétion après traitement											
									15 mn	30mn	45 mn	60 mn	75mn	90 mn	105mn	120mn	135mn	150mn	165mn	180mn
Acidité en µ Eq / 15 mn		Moyenne : 1,57 ± 0,07																		
Histamine	13	2,00 ±0,28	1,87 ±0,29	1,91 ±0,26	1,94 ±0,26	1,95 ±0,28	1,95 ±0,26	Histamine 1,40 mg/Kg	2,19 ±0,32	4,27 ±0,68	4,03 ±0,47	2,87 ±0,25	2,18 ±0,21	1,85 ±0,19	1,71 ±0,19	1,57 ±0,16	1,49 ±0,15	1,50 ±0,14	1,34 ±0,10	1,26 ±0,10
Pentagastrine	13	0,98 ±0,09	0,96 ±0,09	0,99 ±0,10	0,96 ±0,11	1,01 ±0,11	1,04 ±0,12	Peptavlon 1,60 µg/Kg	1,16 ±0,15	2,10 ±0,25	2,11 ±0,17	1,56 ±0,19	1,33 ±0,16	1,07 ±0,11	0,99 ±0,09	0,95 ±0,07	0,87 ±0,05	0,83 ±0,05	0,87 ±0,05	0,83 ±0,04
Ethanol	10	1,88 ±0,38	1,90 ±0,38	1 84 ±0,38	1,90 ±0,37	1,83 ±0,35	1,86 ±0,37	Ethanol 2 g /Kg	1,85 ±0,30	2,56 ±0,45	3,11 ±0,77	2,75 ±0,68	2,59 ±0,69	2,39 ±0,45	2,08 ±0,34	2,10 ±0,34	1,99 ±0,31	1,93 ±0,31	1,86 ±0,33	1,78 ±0,31
Pepsine en mg (t.200) / 15 mn		Moyenne : 0,79 ± 0,03																		
Histamine	13	0,87 ±0,15	0,78 ±0,14	0,75 ±0,11	0,85 ±0,18	0,79 ±0,15	0,85 ±0,17	Histamine 1,40 mg/Kg	1,04 ±0,16	2,04 ±0,24	2,18 ±0,22	1,88 ±0,27	1,47 ±0,23	1,23 ±0,21	1,23 ±0,22	1,30 ±0,26	1,15 ±0,24	1,09 ±0,23	1,07 ±0,23	1,06 ±0,23
Pentagastrine	13	0,86 ±0,12	0,84 ±0,12	0,86 ±0,14	0,78 ±0,13	0,83 ±0,15	0,82 ±0,14	Peptavlon 1,60 µg/Kg	1,11 ±0,17	1,74 ±0,21	1,71 ±0,15	1,71 ±0,22	1,82 ±0,27	1,48 ±0,25	1,24 ±0,24	1,08 ±0,21	0,98 ±0,15	0,88 ±0,14	0,89 ±0,15	0,89 ±0,13
Ethanol	10	0,88 ±0,13	0,80 ±0,10	0,73 ±0,09	0,59 ±0,07	0,58 ±0,08	0,58 ±0,07	Ethanol 2 g / Kg	0,70 ±0,10	1,08 ±0,18	1,29 ±0,21	1,28 ±0,16	1,07 ±0,17	0,91 ±0,16	0,78 ±0,15	0,68 ±0,13	0,67 ±0,13	0,65 ± 0,12	0,59 ±0,09	0,66 ±0,11

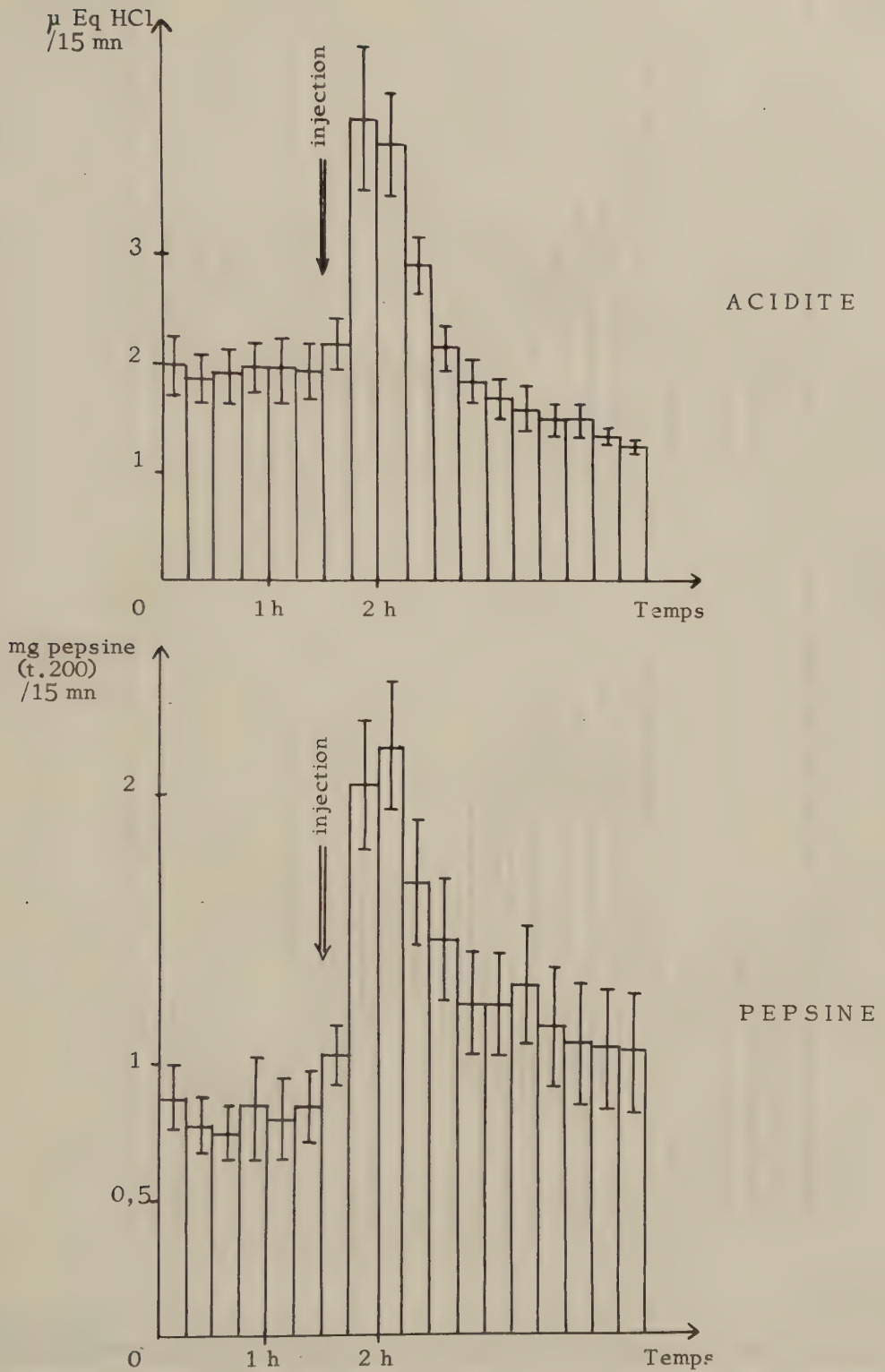


FIGURE N° 13 - Effet d'une injection intraveineuse d'HISTAMINE sur la sécrétion acide (en haut) et pepsique (en bas) de la cavité gastrique perfusée de rats normaux.

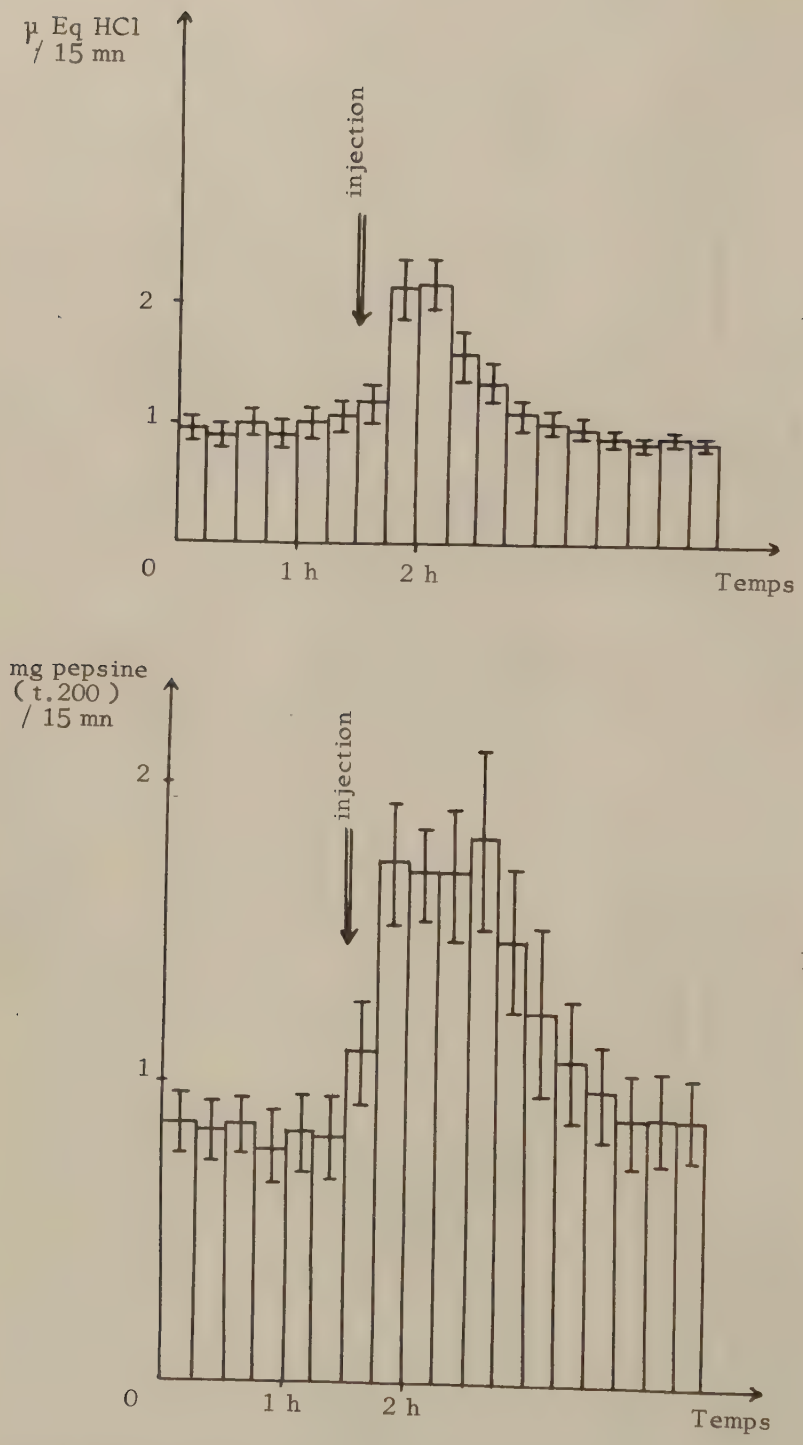


FIGURE N°14 - Effet d'une injection intraveineuse de PEPTAVLON sur la sécrétion acide (en haut) et pepsique (en bas) de la cavité gastrique perfusée de rats normaux.

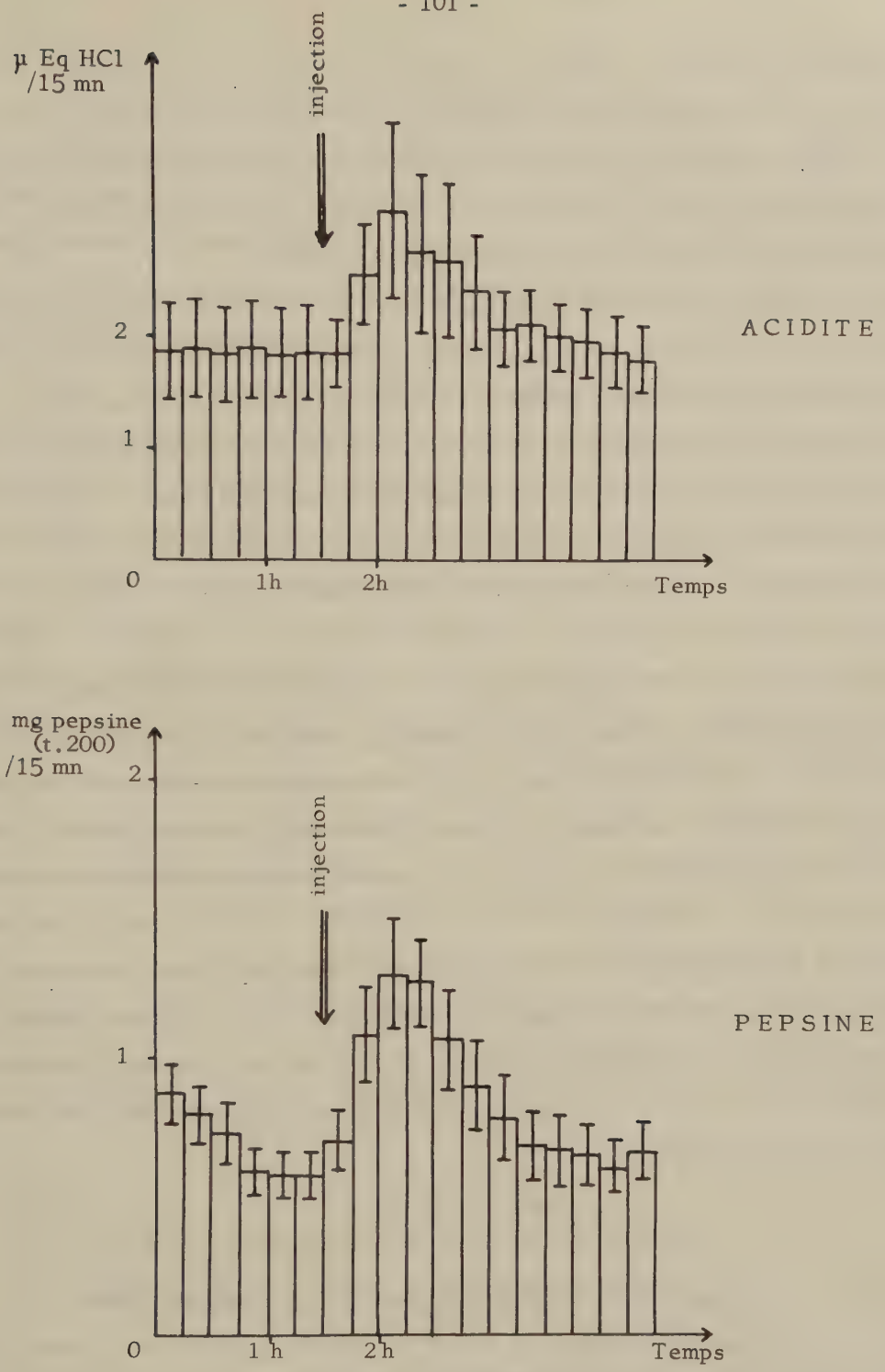


FIGURE N°15 - Effet d'une injection intraveineuse d' ETHANOL sur la sécrétion acide (en haut) et pepsique (en bas) de la cavité gastrique perfusée de rats normaux.

l'injection où nous trouvons respectivement 2,18 ± 0,21 et 1,85 ± 0,19 µ Eq d'H Cl par 15 minutes; cependant le niveau sécrétoire continue à baisser pendant la durée de l'expérience et se trouve ainsi à une valeur inférieure à celle obtenue pendant la période précédant le traitement; en effet 180 minutes après l'injection, c'est à dire 2h 30 après le début de la perfusion, nous avons une sécrétion acide de 1,26 ± 0,10 µEq d'H Cl par 15 minutes.

L'administration intraveineuse de pentagastrine PEPTAVLON provoque aussi rapidement une hypersécrétion acide dont le maximum apparaît également 30 minutes après le traitement mais se maintient également au bout de 45 minutes: les valeurs observées sont de 2,10 ± 0,25 et 2,11 ± 0,17 µEq d'H Cl par 15 minutes, et elles sont équivalentes au double de la sécrétion basale des mêmes animaux; le retour à la normale s'effectue un peu plus lentement que précédemment, car c'est après une période de 105 minutes de perfusion gastrique faisant suite à l'administration de pentagastrine que nous retrouvons la valeur témoin moyenne de ce groupe de rats.

Le traitement par l'alcool éthylique à la dose de 2 g par Kg de poids corporel augmente la sécrétion acide de l'estomac perfusé dont le maximum de 3,11 ± 0,77 µ Eq d'H Cl par 15 minutes apparaît 45 minutes après l'injection, c'est à dire un peu plus tard qu'après une stimulation histaminique ou gastrinique. Il faut souligner que l'hyperacidité dure pendant une période beaucoup plus longue que précédemment et c'est une des raisons pour lesquelles nous avons maintenu les animaux de cette expérience pendant une période de 180 minutes après l'excitation pour avoir la certitude d'enrégistrer la capacité sécrétoire totale des estomacs ainsi stimulés. Nous avons noté par ailleurs que l'erreur moyenne est comparativement bien plus élevée après l'action de l'éthanol qu'après le traitement à l'histamine ou à la pentagastrine car l'hypersécrétion est souvent décalée d'un rat à l'autre lorsqu'on injecte l'alcool, tandis qu'elle est plus régulière avec l'histamine et la pentagastrine.

b- Effets de l'histamine, de la pentagastrine et de l'éthanol sur la sécrétion peptique de la cavité gastrique perfusée.

La sécrétion peptique de base est en moyenne dans nos conditions 0,79 ± 0,03 mg de pepsine (t. 200) par 15 minutes (comme on peut le voir dans le tableau n° 19 ainsi que sur les figures n° 13, 14 et 15), et les valeurs que nous avons obtenues sont beaucoup plus homogènes que celles de l'acidité ; cependant nous avons remarqué que dans la sécrétion basale des rats ultérieurement soumis à l'injection d'éthanol, cette stabilité n'apparaît que 45 minutes après le début de l'expérience, ce qui justifie en quelque sorte la necessité d'une période d'équilibre

assez longue.

Lorsque les animaux reçoivent l'histamine, la sécrétion de pepsine augmente immédiatement et atteint son niveau supérieur de 2,18 ± 0,22 mg de pepsine (t. 200) par 15 minutes, 45 minutes après l'injection intraveineuse ; il faut noter en outre que l'hyperactivité protéolytique consécutive au traitement en question est un phénomène qui se prolonge dans le temps alors que nous avons observé dans les mêmes conditions que la sécrétion acide rejoint assez rapidement son niveau basal.

Après l'injection de pentagastrine, l'augmentation de l'activité protéolytique de l'estomac perfusé augmente nettement dès le traitement, mais le maximum n'est atteint qu'au bout de 75 minutes bien que l'on puisse considérer qu'elle se maintient " en plateau " entre 30 et 75 minutes soit pendant 1 heure, où elle varie entre 1,71 ± 0,22 et 1,82 ± 0,27 mg de pepsine (t. 200) par 15 minutes. En fait cela correspond globalement à une forte augmentation de la sécrétion peptique d'autant plus que les valeurs basales de l'ordre de 0,85 mg par 15 minutes n'apparaissent qu'au bout de 150 minutes.

L'éthanol enfin manifeste également une stimulation de la sécrétion pepsique mais la cinétique est encore différente car le niveau maximum de 1,29 ± 0,21 mg de pepsine (t. 200) par 15 minutes apparaît au bout de 45 minutes et se maintient jusqu'à 60 minutes, pour diminuer ensuite d'une manière progressive mais lente jusqu'à la valeur basale.

On peut donc observer en bref que l'histamine, la pentagastrine et l'éthanol stimulent la sécrétion peptique pendant une période plus longue que la sécrétion acide d'autant plus que les premières valeurs les plus élevées sont enregistrées à peu près en même temps pour les deux constituants étudiés de la sécrétion gastrique.

c- Etude corrélative.

L'étude corrélative a été effectuée selon les mêmes méthodes que celles décrites plus haut, c'est à dire sur la sécrétion de l'heure immédiatement consécutive au traitement. Le tableau n° 20 indique les coefficients r de la corrélation entre l'acide et la pepsine sécrétés après l'injection d'histamine, de pentagastrine et d'éthanol.

En ce qui concerne la stimulation histaminique ce coefficient est égal à 0,54 et la probabilité est hautement significative ($P < 0,001$) puisque la valeur de t est 4,518 pour un degré de liberté de 50 ; la régression est également significative car le coefficient F est 20,67 ($P < 0,01$) ce qui veut dire que la courbe à 99 chances sur 100 d'être une droite ; nous avons calculé que

TABLEAU N° 20

Corrélations entre l'acide et la pepsine secrétés par l'estomac perfusé de rats normaux après stimulation par l'histamine, la pentagastrine et l' éthanol.

(les calculs ont été effectués sur la sécrétion dans l'heure immédiatement consécutive au traitemer

Traitement	Histamine n = 52	Pentagastrine peptavlon n = 52	Ethanol n = 40
Corrélation r	0, 54	0, 61	0, 31
Corrélation t	4, 518	5, 366	2, 030
Corrélation P	P< 0, 001	P< 0, 001	P = 0, 05
F	20, 67 (1 %)	29, 49 (1 %)	4, 10 (5 %)
Equation de la droite	y=(0,27x±0,06)+(0,88 ± 0,20)	y=(0,56 x ±1,10) +(0,60 ±0, 18)	y=(0,10 x ± 0,05) +(0,84 ±0,12

l'équation de cette droite est la suivante :

$$y = 0,27\ x + 0,88$$

La stimulation par la pentagastrine entraîne une augmentation de la sécrétion et il y a une corrélation significative entre la pepsine y et l'acide x ; le coefficient r est ici 0,61 et le risque d'erreur est également inférieur à 1 pour 1000. Calculée selon les mêmes conditions qu pour la sécrétion après l'injection d'histamine, la droite a comme équation:

$$y = 0,56\ x + 0,60$$

Enfin pour ce qui est de l'effet de l'éthanol sur la sécrétion acide et pepsique de l'estom perfusé nous avons obtenu un coefficient de corrélation r plus faible que pour les deux cas pré dents ; en effet le coefficient r est égal à 0,31 et la probabilité n'est que de 0,5 pour 100 qui est la valeur limite de la signification ; parallèlement la valeur F est également assez faible ma permet quand même d'établir la droite de régression qui est :

$$y = 0,10\ x + 0,84$$

L'ensemble de ces résultats indiquent donc que l'histamine, la pentagastrine et l'éthanol augmentent d'une manière corrélative la sécrétion de l'acide et la pepsine mais dans des proportions inégales ; la pente des droites est en effet différente mais comme le test de linéarité n'est pas utilisable dans nos conditions, on ne peut pas non plus faire de test sur la pente de ces droites.

3°-Discussion.

Par rapport aux résultats obtenus dans un chapitre précédent (deuxième partie) nous observons une sécrétion de base plus faible, tant du point de vue de l'acidité que de l'activité peptique. Il est difficile d'expliquer une telle différence bien que nous ayons déjà vu que la sécrétion de l'estomac perfusé pouvait varier dans des limites assez larges d'un animal à l'autre (32) ; de toute manière les rats utilisés dans les deux expériences proviennent de lots différents et surtout leur poids n'est pas comparable ; en effet on avait employé précédemment des rats de 400 g environ tandis que dans le cas présent il s'agit d'animaux pesant 300 g et si on rapporte la sécrétion à 100 g de poids corporel on obtient surtout pour l'acide des valeurs plus proches les unes des autres : ce rapport dans la première expérience est 0,58 pour l'acide, 0,32 pour la pepsine et dans le cas présent il est égal à 0,52 et 0,26. Il est donc possible que les sécrétions acide et pepsique de l'estomac perfusé dépendent plus ou moins directement du poids de l'animal et c'est pour cette raison que dans une même expérience nous avons toujours utilisé des rats de poids semblables ; comme nous l'avons mentionné précédemment, on évite ainsi d'en tenir compte dans les calculs.

Par ailleurs nous avons remarqué que la sécrétion acide se trouve à des niveaux parfois différents selon les groupes, comme on peut le voir sur le tableau n° 19 ; le lot soumis ultérieurement à la pentagastrine a en effet une sécrétion acide de base plus faible que la moyenne de tous les rats alors que la sécrétion de pepsine est semblable à cette moyenne générale ; ces variations n'empêchent cependant pas l'effet du stimulant mais restent peu explicables d'autant plus que le nombre des rats est le même que dans les autres lots ; il faut souligner néammoins que l'erreur moyenne est de l'ordre de 10 pour 100 dans ce cas ce qui indique une certaine homogénéité tandis que dans les autres lots elle est supérieure à cette valeur.

a- Effets de l'histamine.

Dans la plupart des travaux cliniques ou expérimentaux, l'histamine a été injectée par

voie sous cutanée mais certains auteurs ont observé que l'administration intraveineuse était également efficace (231) ; la dose que nous avons employée est très forte comparativement à celle utilisée chez l'Homme, le Chien ou le Chat mais elle est nécessaire puisque, comme nous l'avons vu, le Rat est relativement réfractaire à cette substance (151, 458).

La réponse obtenue dans ces conditions est classique chez le Rat tant pour la sécrétion acide (172) que pour la sécrétion pepsique (446) et de même, la chute de la sécrétion après l'hyperacidité a également été observé chez le Chien par HIRSCHOWITZ (215) mais ce n'est pas le cas pour l'activité protéolytique qui reste à un niveau élevé pendant une période très longue.

b- Effets de la pentagastrine.

Comme nous l'avons vu un peu plus haut, la pentagastrine a dans l'ensemble les mêmes effets que la gastrine sur la sécrétion gastrique ; la découverte de telles molécules aussi actives que la gastrine, mais de fabrication ou d'isolement plus facile, est le résultat de travaux recherchant la partie active de la molécule gastrinique que l'on connaît (138), bien qu'elle puisse être elle aussi une fraction de la molécule de l'hormone agissant " in vivo " comme nous l'avons mentionné dans l'introduction générale ; c'est ainsi que différents composés peptidiques ont souvent montré une activité hypersécrétrice sur l'estomac que ce soit des polypeptides comme la caéruléine (52), des tétrapeptides (264), un mélange d'acides aminés (207) ou encore la pancréozymine-cholecystokinine hormone duodénale possédant les cinq acides aminés terminaux de la chaîne peptidique, identiques à ceux de la gastrine (435).

Les résultats que nous avons observés avec la pentagastrine dans nos conditions expérimentales correspondent aux effets typiques de ce corps, entraînant une augmentation des sécrétions acide et peptique (94) GREGORY et TRACY (179) ont par ailleurs noté les mêmes observations avec la gastrine et il ne semble pas y avoir d'exceptions en ce qui concerne l'hyperacidité produite par la gastrine ou la pentagastrine à faible dose ; l'hyperactivité protéolytique est également de règle dans ces conditions car seuls, SCHOENFIELD et coll. (412) ont indiqué que des extraits gastriniques de muqueuse de porc ne stimulent pas la sécrétion de pepsine chez le Rat porteur d'une fistule chronique ; ce résultat qui n'a pas été confirmé par la suite est probablement dû à la nature même des extraits insuffisamment purifiés.

La dose que nous avons utilisée (1,60 µg / Kg) a été choisie d'après les résultats de BARRETT (32) et il faut souligner qu'elle est faible comparativement à celles qui ont été ordinairement employées: en effet KLEIN et coll. (261) injectent de 25 à 50 µg par rat, LEE et

THOMPSON (290) 400 µg, et THOMPSON (448) administre 1000 µg par Kg mais par voie sous-cutanée. Par ailleurs il a été établi une relation entre la quantité de pentagastrine administrée et l'importance de la réponse acide (157).

Le traitement par voie intraveineuse ne modifie pas essentiellement la réaction sécrétoire (71) bien que la quantité nécessaire soit en général plus faible que lorsque l'injection est réalisée par voie sous-cutanée ; AMURE et GINSBURG (11) ont montré que l'injection de gastrine dans l'artère gastrique entraîne une hypersécrétion acide plus immédiate et plus forte qu'une même quantité administrée par voie veineuse et l'on sait aussi que la vitesse d'injection influe sur la réponse consécutive.

c- Effets de l'éthanol.

L'hyperacidité de l'estomac perfusé que nous avons noté dans cette expérience est plus faible en valeur absolue que celle qui a été observée dans la première partie ; en effet nous avons obtenu précédemment une augmentation de 2,8 fois la sécrétion de base ; or dans le cas présent l 'augmentation n'atteint pas le double de la sécrétion basale ; en fait ces valeurs, si elles sont expressives, ne sont cependant pas très représentatives du phénomène car elles ne font intervenir ni l'erreur moyenne ni la capacité sécrétoire globale. Si on tient compte de ces deux facteurs on s'aperçoit d'une part que l'importance quantitative de l'erreur moyenne indique qu'il n'y a pas de modifications significatives au niveau du maximum de la courbe, d'autre part que la durée de l'hypersécrétion est sensiblement du même ordre dans les deux expériences.

En ce qui concerne l'augmentation de la pepsine après l'injection d'alcool éthylique nous retrouvons également dans l'ensemble les résultats obtenus précédemment. Le maximum est toujours situé à 45 minutes après le début du traitement et la sécrétion pepsique reste à une valeur élevée pendant une longue durée puis décroît lentement. Ces observations indiquent que les résultats ne sont pas essentiellement modifiés par le niveau basal de sécrétion et ceci est corroboré par la valeur de la pente des droites de régression.

d- Comparaison des effets de l'histamine, la pentagastrine, et l'éthanol sur l'estomac perfusé.

La comparaison des effets de l'histamine, de le pentagastrine et de l'éthanol sur la sécrétion de l'estomac perfusé peut être faite par l'étude des corrélations. La probabilité de la signification pour ces trois stimulants indique que la pepsine et l'acide sont liés corrélativement

pendant l'heure qui suit l'injection, et nous avons noté que cette corrélation est traduite par des droites dont les pentes sont plus ou moins différentes. Dans nos conditions une pente élevée de la courbe signifie que la pepsine (y) est augmentée plus fortement que la sécrétion acide (x).

Nous pouvons donc considérer que le peptavlon est, chez le Rat, un stimulant de la pepsine plus puissant que l'histamine ; nous observons là des résultats inverses de ceux de MAKHLOU et coll. (315) chez l'Homme qui ont utilisé à vrai dire de la gastrine et non de la pentagastrine mais conformes à ceux de COOKE (94) chez le Chien qui a noté que le pentapeptide augmente beaucoup plus la pepsine que ne le fait l'histamine ; ils est de plus plausible que des variations entre les espèces animales puissent exister.

Quant à la stimulation éthanolique elle est différente de l'excitation histaminique ou gastrinique car la pente de la courbe est de 0,10 contre 0,27 et 0,56 respectivement pour l'histamine et le peptavlon ; on peut donc considérer que l'éthanol augmente bien moins la pepsine que les deux autres stimulants étudiés dans l'heure qui suit l'injection.

Par contre quand on tient compte de l'évolution de la sécrétion dans le temps, l'allure des courbes obtenues montre une certaine analogie entre le peptavlon et l'éthanol ; avec ces deux substances en effet les valeurs reviennent lentement à leur niveau basal tandis que l'histamine réagit différemment puisque, comme nous l'avons vu , l'acidité décroit nettement alors que la pepsine reste à une valeur supérieure à la sécrétion de base même après 3 heures de perfusion.

En définitive l'étude comparative de l'histamine, de la pentagastrine et de l'éthanol sur la sécrétion de l'estomac perfusé ne permet pas de tirer des conclusions très nettes sur le rôle éventuel de l'un ou de l'autre intermédiaire gastrique ; les variations que nous avons observées montrent que l'éthanol a un effet immédiat différent de celui de l'histamine ou de la pentagastrine mais dans un deuxième temps l'effet de l'éthanol se rapproche de celui de la pentagastrine ; l'étude de la cinétique de la réponse sécrétoire permet donc d'établir qu'il existe des facteurs immédiatement efficaces qui agissent dans l'hypersécrétion gastrique et que par la suite prend place un certain nombre de processus qui peuvent interférer sur la réponse.

B- Estomac isolé.

Après avoir comparé les effets de l'histamine, de la pentagastrine et de l'éthanol sur la sécrétion de l'estomac perfusé " in vivo " nous avons poursuivi cette étude comparative en utilisant la méthode de l'estomac isolé ou "in vitro". Nous avons vu en effet que l'estomac isolé de

Rat était sensible à l'éthanol et qu'il répondait par une légère hypersécrétion à de faibles concentrations d'alcool ou par une diminution sécrétoire lorsqu'il était en présence de fortes concentrations. Par ailleurs sur une préparation semblable , DIKSTEIN et SULMAN (120)ont noté une formation accrue d'acide sous l'effet de l'histamine, puis GAMBA et VETTORI (156) ont observé une augmentation de la sécrétion acido -peptique avec l'acéthylcholine et une diminution avec l'atropine, ces deux substances étant à la dose de 100 µg par ml de milieu d'incubation.

L'étude comparative des effets, de l'histamine, de la gastrine * et de l'éthanol sur l'estomac isolé nous permet donc d'abord de préciser l'action de ces substances dans des conditions " in vitro ", ensuite d'éviter certains inconvénients de la méthode de perfusion gastrique comme le choc opératoire et l'anesthésie, enfin d'approfondir l'étude du rôle des intermédiaires dans l'hypersécrétion provoquée par l'éthanol.

1°- Techniques.

Nous avons employé120 rats mâles adultes de race Wistar d'un poids moyen de 350 g et la préparation d'estomac isolé a été réalisée dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment. Dans le milieu d'incubation identique à celui que nous avons déjà utilisé nous avons ajouté les substances à étudier en tenant compte du volume ajusté à 10 ml et du pH toujours égal à 7,0 au début de l'expérience car c'est la valeur de pH où la réponse sécrétoire peut être maximum (17). Les animaux ont été répartis en 5 lots de 24 rats et ces lots ont été séparés en 3 groupes de 8 rats chacun correspondant d'une part au traitement, d'autre part aux temps étudiés : 30 minutes, 60 minutes et 120 minutes.

Les estomacs des rats témoins ont été placés dans le milieu contenant 100 mM de chlorure de sodium, 80 mM de glucose, 6 mM de chlorure de potassium et 2 mM de chlorure de magnésium ; l'histamine sous forme bichlorydrate a été ajoutée à la dose de 100 µg par ml,

---

* Pour des raisons d'ordre matériel et pratique nous avons été obligés d'effectuer certaines expériences de notre travail soit avec la pentagastrine soit avec la gastrine ; dans le travail présent nous avons pu disposer de la gastrine antrale de porc qui nous a été aimablement fournie par les Laboratoires EURORGA à qui nous adressons nos remerciements.

la gastrine extraite de l'antre pylorique de porc à la concentration de 1,15 µg par ml, l'éthanol enfin a été utilisé aux doses de 1 ml et de 10 ml pour 100 ml de milieu d'incubation, soit une représentation de 0,8 g et de 8 g d'éthanol pour 100 ml équivalant à des quantités respectives de 1,7 mM et 17 mM d'éthanol par estomac.

A la fin de chaque temps et pour chaque groupe nous avons mesuré l'acidité libre, l'acidité totale, la pepsine, l'acidité lactique et le glucose par les méthodes indiquées précédemment.

2° Résultats

a - effets de l'histamine

Nous pouvons voir dans le tableau n° 21 et sur la figure n° 16 que l'histamine à la dose de 100 µg par ml, c'est-à-dire 1 mg par estomac, provoque " in vitro " une augmentation significative de l'acidité libre au bout de 90 minutes d'incubation ; de même l'acidité totale est augmentée significativement ($P < 0,01$) après 120 minutes d'incubation ; en effet l'estomac isolé sécrète 2,54 ± 0,20 µ Eq HCl par ml de milieu chez les rats témoins et 3,56 ± 0,22 µ Eq HCl en présence d'histamine.

Par ailleurs , l'histamine n'entraîne aucune modification de l'activité protéolytique après 60 et 90 minutes d'incubation mais au bout de 120 minutes la diminution de cette activité est significative puisqu'on observe chez les témoins une sécrétion égale à 37,44 ± 9,84 µg de pepsine par ml de milieu et 13,94 ± 1,53 µg en présence de l'histamine ($P < 0,05$). L'acidité lactique quant à elle ne varie pas de manière significative et les écarts maximum que nous trouvons sont relativement faibles : 0,181 ± 0,036 µ Eq par ml chez les témoins après 60 minutes d'incubation contre 0,276 ± 0,042 µ Eq en présence d'histamine au bout de 120 minutes.

b - effets de la gastrine.

En présence de gastrine, à la dose de 1,15 µg par ml de milieu ou 11, 5 µg par estomac nous retrouvons dans l'ensemble les résultats obtenus avec l'histamine en ce qui concerne l'acidité libre ; celle-ci est en effet augmentée significativement par la gastrine après 90 minutes d'incubation : 0,92 ± 0,08 µ Eq HCl par ml de milieu témoin et 1, 36 ± 0,11 µ Eq par ml de milieu contenant la gastrine ($P < 0,01$) ; après 120 minutes l'augmentation de l'acidité libre est toujours significative ($P < 0,05$) mais il n'y a aucune modification significative de l'acidité totale.

Après 90 minutes d'incubation on observe une augmentation de la sécrétion pepsique : l'estomac témoin libère 22,72 ± 5,46 µg de pepsine par ml de milieu et en présence de gastrine

TABLEAU N° 21

Variations sécrétoires de l'estomac isolé en présence d'histamine, de gastrine et d'éthanol contenus dans le milieu d'incubation.

(chaque mesure a été effectuée sur 8 estomacs isolés).

	Acidité libre en µ Eq d' HCl / ml			Acidité totale en µ Eq d'HCl / ml			Activité protéolytique en µg de pepsine de titre 200 (Codex) par ml			Acide lactique µ Eq / ml			Glucose mg / ml		
Temps d'incubation	60 mn	90 mn	120 mn	60 mn	90 mn	120 mn	60 mn	90 mn	120 mn	60 mn	90 mn	120 mn	60 mn	90 mn	120 mn
Témoins	0,59 ±0,09	0,92 ±0,08	1,43 ±0,14	1,26 ±0,12	2,00 ±0,19	2,54 ±0,20	38,45 ±12,73	22,72 ± 5,46	37,44 ± 9,84	0,181 ±0,036	0,233 ±0,026	0,236 ±0,033	14,55 ± 0,12	14,00 ± 0,16	14,11 ± 0,08
Histamine 100 µg / ml	0,77 ±0,09 N.S.	1,53 ±0,23 P<0,05	2,18 ±0,10 P<0,001	1,32 ±0,09 N.S.	2,35 ±0,30 N.S.	3,56 ±0,22 P<0,01	48,80 ±11,13 N.S.	13,71 ± 2,04 N.S.	13,94 ± 1,53 P<0,05	0,179 ±0,025 N.S.	0,193 ±0,029 N.S.	0,276 ±0,042 N.S.	14,78 ± 0,06 N.S.	14,22 ± 0,22 N.S.	14,02 ± 0,15 N.S.
Gastrine 1,15 µg/ml	0,73 ±0,10 N.S.	1,36 ±0,11 P<0,01	2,10 ±0,31 P<0,05	1,44 ±0,08 N.S.	2,20 ±0,18 N.S.	3,02 ±0,32 N.S.	78,39 ±15,36 N.S.	49,40 ± 5,80 P<0,01	68,29 ±13,23 N.S.	0,244 ±0,056 N.S.	0,216 ±0,011 N.S.	0,267 ±0,065 N.S.	14,39 ± 0,14 N.S.	14,29 ± 0,11 N.S.	14,41 ± 0,19 N.S.
Ethanol 1 % 1,7 mM/estomac	0,66 ±0,09 N.S.	1,25 ±0,13 P<0,05	1,97 ±0,14 P<0,02	1,71 ±0,10 N.S.	2,12 ±0,10 N.S.	3,13 ±0,23 N.S.	57,32 ±14,35 N.S.	48,34 ±16,66 N.S.	61,20 ±17,28 N.S.	0,141 ±0,013 N.S.	0,168 ±0,021 N.S.	0,174 0,021 N.S.	14,23 ± 0,12 N.S.	13,83 ± 0,14 N.S.	14,26 ± 0,26 N.S.
Ethanol 10 % 17 mM/ estomac	-	0 P<0,001	0 P<0,001	-	0,55 ±0,05 P<0,001	0,62 ±0,02 P<0,001	-	288,12 ± 52,15 P<0,001	238,20 ± 28,12 P<0,001	-	0,777 ±0,036 P<0,001	0,778 ±0,047 P<0,001	-	14,36 ± 0,16 N.S.	14,33 ± 0,13 N.S.

N.S. = non significatif

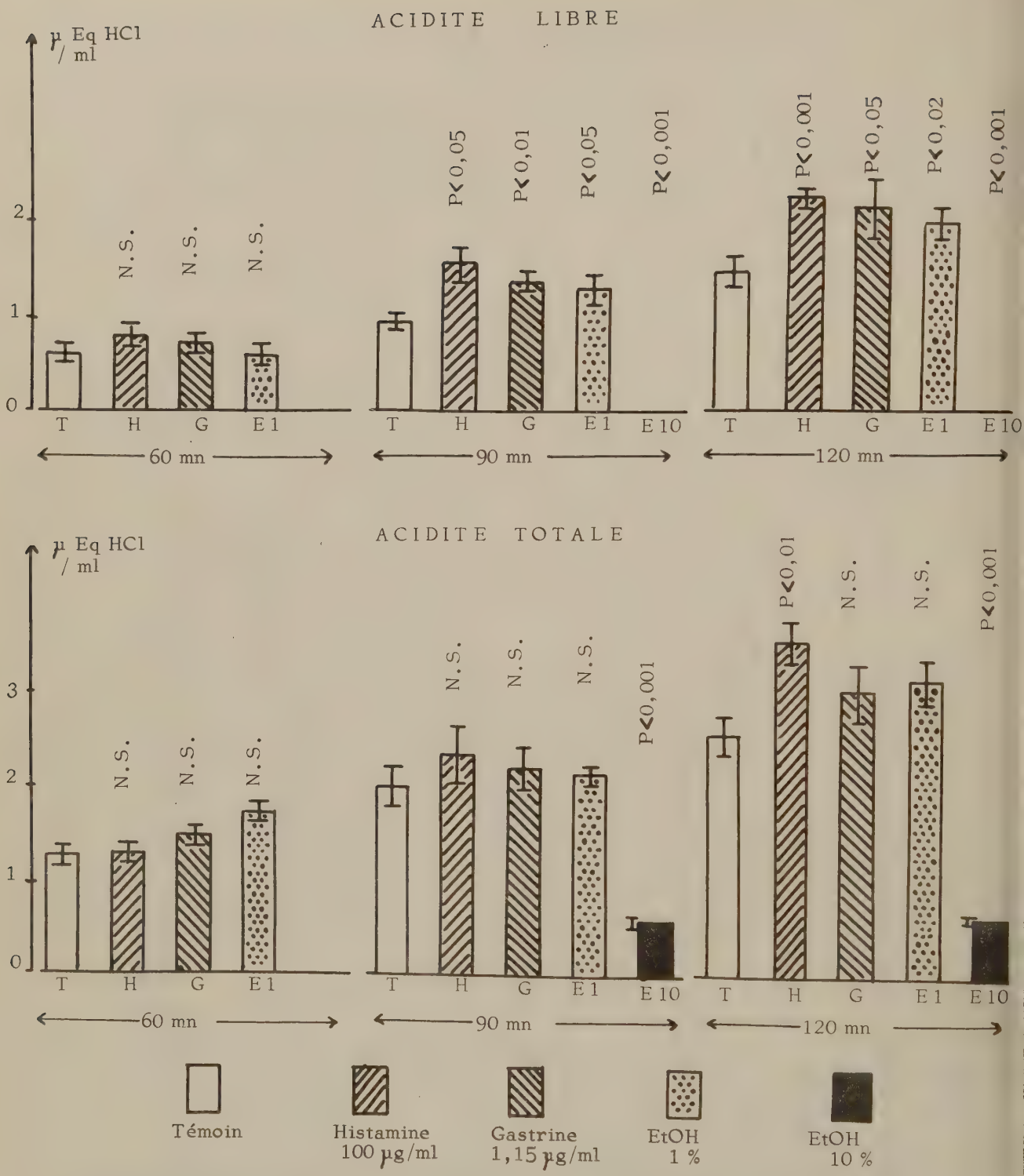


FIGURE N° 16 a - Variations de différents constituants de la sécrétion de l'estomac isolé de rats sous l'effet de l'histamine, de la gastrine, ou de l'éthanol contenus dans le milieu d'incubation.

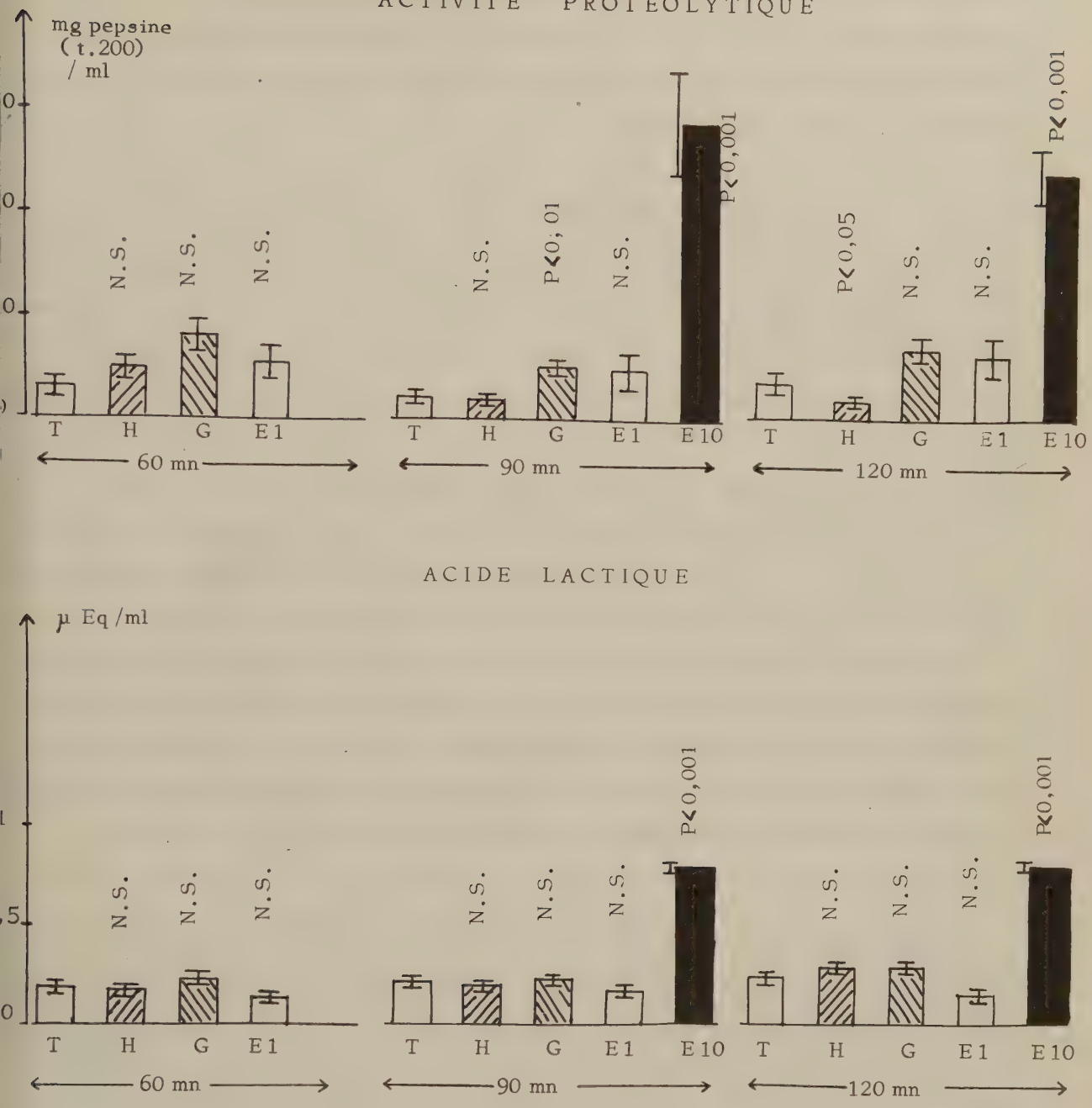


FIGURE N° 16 b - Variations de différents constituants de la sécrétion de l'estomac isolé de rats sous l'effet de l'histamine, de la gastrine ou de l'éthanol contenus dans le milieu d'incubation.

il libère 49,40 ± 5,80 µg (P<0,01). Cette élévation d'activité peptique se retrouve également après 120 minutes d'incubation mais elle n'est pas statistiquement significative. De même qu'en présence d'histamine, la gastrine ne provoque aucune modification des concentrations de glucose et d'acide lactique du milieu.

c - effet de l'éthanol.

Comme on peut le remarquer dans le tableau n° 21 et sur la figure n° 16, les deux doses d'éthanol que nous avons employées donnent des résultats très différents : l'éthanol, à la concentration de 1 pour 100 provoque une augmentation significative de l'acidité libre après 90 minutes d'incubation ; par contre, à la concentration de 10 pour 100 , on observe une inhibition totale : 0,92 ± 0,08 µ Eq HCl par ml de milieu chez le témoin, 1, 25 ± 0,13 µ Eq avec l'éthanol à 1 pour 100 (P<0,05) et pas de sécrétion avec l'éthanol à 10 pour 100 (P<0,001). Le même résultat peut être noté quand l'incubation dure 120 minutes ; il faut souligner que l'augmentation de l'acidité due à l'éthanol à la concentration de 1 pour 100 ne porte que sur l'acidité libre puisque l'acidité totale n'augmente significativement à aucun des temps étudiés.

L'éthanol à la concentration de 1 pour 100 dans nos conditions, ne modifie pas d'une manière significative l'activité peptique ; par contre à la concentration de 10 pour 100 , on observe une augmentation considérable et très significative ; par exemple, après 90 minutes d'incubation, la quantité de pepsine est de 22,72 ± 5,46 µg par ml de milieu et en présence d'éthanol à 10 pour 100 elle atteint 288,12 ± 52,15 µg (P<0,001).

La concentration de l'acide lactique dans le milieu ne varie pas d'une manière significative par rapport aux témoins lorsque l'estomac est en présence d'éthanol à la concentration de 1 pour 100 ; mais il faut remarquer qu'avec une concentration de 10 pour 100 d'éthanol la production d'acide lactique est 3 fois plus élevée par rapport aux témoins, que ce soit après 90 minutes ou 120 minutes d'incubation ; par exemple, après 120 minutes d'incubation, la concentration de l'acide lactique par ml de milieu est de 0,236 ± 0,033 µ Eq chez les témoins alors qu'elle est de 0,778 ± 0,047 µ Eq lorsque l'estomac est en contact avec l'éthanol à 10 pour 100 (P<0,001). La concentration d'acide lactique trouvée correspond ainsi à l'acidité totale mesurée par ailleurs ; enfin il faut noter que la concentration de glucose ne subit que peu de variations dans nos conditions expérimentales.

3°- Discussion.

a) effets de l'histamine.

La dose d'histamine que nous avons utilisée correspond à celle que DIKSTEIN et SULMAN (120) et GAMBA et VETTORI (156) ont choisi dans leur expérience pour obtenir une hyperactivité sécrétoire de l'estomac isolé de Rat ; GAMBA et VETTORI (156) ont même essayé des quantités aussi importantes que 500 µg par ml de milieu d'incubation et ils ont observé une acidité et une libération de pepsine plus importante qu'avec 100 µg par ml. L'estomac isolé de Rat est donc également peu sensible à l'histamine par rapport aux autres espèces animales et il faut de fortes quantités pour avoir un effet stimulant.

Dans les milieux d'incubation de notre expérience , chaque estomac était en présence d' 1 mg d'histamine soit environ 2,8 mg par Kg de poids corporel, c'est-à-dire le double de ce que nous avons injecté précédemment par voie intraveineuse.

L'augmentation de l'acidité libre et celle,moins nette,de l'acidité totale indique que l'histamine peut agir directement sur la cellule pariétale sans que le nerf vague n'intervienne puisque l'innervation extrinsèque est par définition exclue d'un organe isolé. Ces résultats sont à rapprocher d'une part de ceux de ALPHIN et LIN (8) , obtenus sur des poches dénervées d'estomac de Rat, d'autre part de ceux de DIKSTEIN et SULMAN (120), CUMMINS et VAUGHAN (97) GAMBA et VETTORI (156) sur différentes préparations d'estomacs isolés de rat. Tous ces auteurs ont noté que l'histamine pouvait augmenter la sécrétion acide en absence du nerf vague ou sous l'influence de substances vagolytiques.

Par ailleurs l'effet de l'histamine sur la sécrétion pepsique est l'objet de nombreux travaux et il ne semble pas que cette substance ait une action identique dans toutes les espèces animales (213) mais la vagotomie réduit plus ou moins la réponse notamment chez l'Homme(168). Dans nos conditions, l'histamine ne modifie pas la sécrétion de pepsine dans un premier temps et la diminue au bout de 120 minutes. On ne retrouve donc pas les résultats de VILLAREAL (463) sur l'estomac isolé de Souris ni ceux de GAMBA et VETTORI (156) sur le Rat, mais FERGUSON (140) a observé,chez le Chien,que la dénervation d'une poche isolée réduit considérablement l'hypersécrétion de pepsine consécutive à un traitment d'histamine, si bien qu'il n'y a pratiquement pas de différences par rapport à des périodes témoins. Parallèlement, BEAUVILLE et RAYNAUD (43) ont noté que des poches isolées d'estomac de Lapin présentent une véritable insensibilité à l'histamine pour ce qui concerne l'activité peptique ; en fait on peut penser que, étant donné la dose utilisée dans notre expérience, l'histamine a un effet pharmacolo-

gique et même presque toxique sur la cellule principale ; ainsi l'action directe de cette substance peut-elle être peu appréciable d'autant plus que malgré tout l'estomac " in vitro " ne se trouve pas dans des conditions idéales de défense.

b) effet de la gastrine.

Nous avons observé précédemment et à la suite de nombreux auteurs que la gastrine a une action hypersécrétrice d'acide et de pepsine et que ce phénomène est très général chez l'Homme et chez l'Animal intact. Dans notre cas, lorsque nous plaçons une substance dans le milieu d'incubation de l'estomac isolé on peut comparer les résultats à ceux obtenus après un traitement oral et après une vagotomie chez l'animal entier avec certaines précautions cependant car l'irrigation sanguine est supprimée ; en effet il est clair que les principales caractéristiques de tout organe ainsi isolé est de subir un contact direct de la substance indépendamment de toute innervation centrale. Or l'effet de la gastrine sur la sécrétion d'estomac vagotomisé a fait l'objet d'un certain nombre d'études et c'est ainsi que PASSARO et GROSSMAN (365) et KONTUREK et GROSSMAN (267) ont observé que la gastrine augmente la sécrétion acide de poches isolées et dénervées de Chien, mais LICK et coll. (296) ont montré que l'atropine supprime également cette action chez le Rat. Par ailleurs BARABAS et coll. (28) ont indiqué que chez l'Homme la vagotomie réduit d'un tiers l'hyperacidité provoquée par la gastrine et ce résultat a été confirmé également chez l'Homme par PAYNE et coll. (369) ainsi que chez le Chat par EMAS et GROSSMAN (137).

Sur des préparations de muqueuses gastriques isolées de Crapaud, Rana catesbiana DAVIDSON et coll. ont de même précisé l'augmentation de l'acidité par la gastrine à partir des doses de $2,5 \times 10^{-9}$ M sans qu'elle n'exerce d'effet inhibiteur à de très fortes concentrations (110) ; la pentagastrine agit de la même manière mais le seuil de la dose nécessaire est alors $2,5 \times 10^{-8}$ M (111) et ces auteurs ont montré que la gastrine de Porc est plus efficace que la pancréozyme-cholecystokinine (112) et qu'elle est aussi puissante que la gastrine humaine (113) pour augmenter la sécrétion acide des muqueuses isolées utilisées.

Enfin KASBEKAR et coll. (253) ont remarqué que la pentagastrine stimule également la sécrétion acide de muqueuse isolée de Crapaud mais que cette muqueuse devient réfractaire à des stimulations répétées.

Pour notre part, nous avons noté que la gastrine de Porc augmente significativement l'acidité libre de l'estomac isolé de Rat ; la dose utilisée correspond approximativement à $0,5 \times 10^{-1}$ M de gastrine pour un estomac ce qui est une valeur inférieure au seuil que DAVIDSON et coll.

(110) ont observé sur la muqueuse isolée deCrapaud; en d'autres termes,cela peut signifier que l'estomac isolé de Rat est plus sensible à la gastrine que la préparation de DAVIDSON, d'autant plus que nous avons remarqué dans une expérience préliminaire,que $0,25 \times 10^{-10}$ M de gastrine par estomac est déjà une dose efficace sur l'acidité.

Quant à l'acidité totale nous avons obtenu dans nos conditions,une légère augmentation par rapport aux témoins aux trois périodes étudiées, si bien que l'on ne peut pas en tirer des conclusions très nettes ; de plus la quantité d'acide lactique formée par les estomacs qui sont dans le milieu contenant la gastrine est semblable à celle que l'on trouve dans les expériences témoins, ce qui permet de confirmer que l'augmentation de l'acidité est bien due à des phénomènes sécrétoires actifs.

L'effet de la gastrine sur la sécrétion pepsique de l'estomac de l'animal "in vivo" est très net,comme nous l'avons vu précédemment,et la plus grande majorité des auteurs ont noté une hyperactivité protéolytique après ou au cours d'un traitement gastrinique. A notre connaissance il n'y a pas eu d'études expérimentales dans ce sens au moyen de méthodes " in vitro ", que ce soit chez le Rat ou chez d'autres Animaux. L'hypersécrétion pepsique,observée pendant l'incubation en présence de gastrine, n'est significative qu'à 90 minutes, mais à 60 minutes aussi bien qu'à 120 minutes, la moyenne sécrétoire est plus élevée tout en n'étant pas significative ; ceci est probablement le reflet des variations individuelles importantes qui entraînent une erreur moyenne élevée; on peut donc considérer que la gastrine a les mêmes effets " in vitro " qu'" in vivo " sur la sécrétion pepsique de l'estomac de Rat.

c) effet de l'éthanol.

Nous avons observé que l'éthanol à la dose de 1 pour 100 en volume dans le milieu d'incubation (ou encore 1,7 mM par estomac) entraîne une augmentation de l'acidité libre par rapport aux animaux témoins ; quant à l'acidité totale l'hypersécrétion n'est pas significative. Ces résultats s'opposent,à première vue,à ceux obtenus précédemment par la même méthode d'estomac isolé mais en fait la technique de mesure de l'acidité effectuée dans le cas présent semble plus précise que l'étude des variations de pH. En ce qui concerne l'activité protéolytique nous avons observé, toujours à cette dose de 1 pour 100,une forte augmentation de la libération de pepsine mais les variations individuelles d'une préparation à une autre sont très grandes ce qui fait que les tests de statistiques ne donnent pas de résultats significatifs; il est alors possible que cet effet soit la conséquence des conditions expérimentales elles mêmes, d'autant plus que l'augmentation de l'activité pepsique en présence d'alcool est un phénomène que nous avons observé, notamment

par la technique de l'estomac perfusé.

A la concentration de 10 ml pour 100ml de milieu d'incubation (ou 17 mM par préparation), l'éthanol inhibe totalement la production d'acidité libre de l'estomac isolé; parallèlement l'acidité totale est très faible et elle correspond approximativement à la formation d'acide lactique ; plus exactement, on peut dire que l'activité titrée en présence de phénolphtaléine est pratiquement équivalente à la quantité mesurée d'acide lactique du milieu ; il faut en effet souligner que la production d'acide lactique, significativement beaucoup plus élevée que chez les témoins , est le signe d'une fermentation lactique importante dans le milieu. On peut donc considérer que la présence d'une telle quantité d'éthanol dans une préparation in vitro entraîne une inhibition fonctionnelle des cellules pariétales dont le métabolisme s'oriente sur la voie anaérobie.

Quant à la sécrétion de pepsine les résultats semblent confirmer également cette opinion; effectivement lorsque l'estomac isolé se trouve dans un milieu d'incubation contenant 10 ml d'éthanol pour 100, nous avons observé une libération massive de pepsine et il est permis de penser que dans ces conditions les granules de pepsinogène sont chassés des cellules d'autant plus qu'il n'y a pas de modifications dans le temps ; il apparaît donc que ce résultat est dû à un effet passif, c'est-à-dire indépendant d'un fonctionnement physiologique des cellules principales.

En résumé, et compte tenu des observations que nous avons faites, nous retrouvons les résultats précédents : à faible dose l'éthanol augmente la sécrétion de l'estomac, à forte dose au contraire il y a une inhibition qui est le résultat d'une altération probable des cellules gastriques et de leurs constituants comme les enzymes.

d) comparaison des effets de l'histamine, de la gastrine et de l'éthanol sur l'estomac isolé.

Nous avons remarqué que l'histamine, la gastrine et l'éthanol à la concentration de 1 pour 100, augmentent l'acidité libre de l'estomac isolé d'une manière statistiquement significative , mais la mesure de l'acidité totale montre en général des différences plus faibles par rapport aux expériences témoins.

Par ailleurs nous avons indiqué dans la première partie de ce travail (Méthodes d'étude) que l'estomac isolé n'est pas une technique très favorable à l'étude de la sécrétion de pepsine et qu'il n'existe pas de corrélation entre la production d'acide et celle d'enzyme; dans ces

conditions, il est difficile de donner une grande importance aux résultats concernant l'activité protéolytique ; on peut cependant considérer que la gastrine et l'éthanol à faible concentration entraînent des sécrétions pepsiques comparables alors que l'histamine a un effet contraire; cela n'est quand même pas un fait assez important et assez constant pour confirmer ou infirmer irréfutablement le rôle de l'un ou l'autre des intermédiaires de la sécrétion gastrique dans l'action de l'alcool sur l'estomac.

C. Conclusions (sur les effets comparatifs).

Les deux méthodes d'étude de la sécrétion gastrique nous ont permis d'abord de préciser, dans des conditions expérimentales semblables, les effets respectifs de l'histamine, de la gastrine et de l'éthanol, et ensuite de comparer les résultats obtenus par ces différents stimulants. C'est ainsi que nous avons retrouvé dans l'ensemble la réponse classiquement admise de l'estomac à ces différentes substances, réponse qui se traduit en général par une hypersécrétion d'acide et de pepsine.

La comparaison des diverses réactions observées permet par ailleurs de considérer certaines analogies : en effet nous avons remarqué sur la cavité gastrique perfusée que la corrélation entre l'acide et la pepsine est significative avec les trois produits étudiés lorsque le calcul est effectué sur la première heure immédiatement consécutive au traitement ; par contre les droites de régression déterminées sur cette période ont des pentes assez dissemblables mais d'une part la pente de la droite qui se rapporte à l'administration de l'éthanol est assez différente des autres, d'autre part il n'a pas été possible de comparer mathématiquement ces pentes pour les raisons énoncées plus haut. Par ailleurs, nous avons pu observer que la cinétique de la sécrétion de la cavité gastrique perfusée est assez analogue pour la pentagastrine et pour l'éthanol tandis que l'histamine a des effets légèrement différents dans le temps.

Par la méthode de l'estomac isolé on peut également observer une certaine similitude entre la gastrine et l'éthanol mais dans ce cas également, la différence n'est pas statistiquement significative.

En définitive, cette étude comparative nous a montré que l'éthanol provoque une hypersécrétion de l' estomac de Rat, probablement analogue à celle que donnent la gastrine ou la pentagastrine; mais comme nous l'avons indiqué précédemment, ce n'est pas une raison suffisante pour affirmer sans ambiguité le rôle de l'hormone dans le mécanisme étudié, d'autant plus que l'alcool peut avoir une certaine action locale sur la cellule gastrique comme cela est montré par les résultats de l'estomac isolé; dans cette préparation en effet la gastrine, si elle est réellement

libérée par l'éthanol, le serait dans le milieu d'incubation et agirait directement sur la cellule pariétale alors que chez l'animal entier la gastrine déchargée au niveau de l'antre pylorique est transportée par le sang circulant et stimule ainsi la cellule sécrétrice; mais comme le souligne GROSSMAN (186) il est possible qu'il y ait une différence " physiologique " entre la gastrine endogène provenant directement de l'estomac, et la gastrine exogène administrée à l'animal par voie générale ou locale. Pour avoir une idée plus nette du mécanisme mis en jeu il faut donc contrôler les variations de l'histamine et de la gastrine après un traitement alcoolique.

II- VARIATIONS DE LA TENEUR EN HISTAMINE ET EN GASTRINE DU TISSU GASTRIQUE.

La mesure des variations de la teneur en histamine et en gastrine du tissu gastrique après l'administration d'éthanol peut permettre d'étudier le rôle éventuel et l'importance de ces deux substances dans le mécanisme étudié ; en effet si l'on suppose comme l'ont déjà fait de nombreux auteurs que l'alcool augmente la sécrétion gastrique par l'intermédiaire de l'histamine ou de la gastrine, il est logique de penser que ces deux produits peuvent varier quantitativement dans la muqueuse de l'estomac ; ainsi lorsque l'éthanol pénètre au niveau gastrique peut-on " a priori " observer soit une décharge d'un stock, soit au contraire une augmentation de la formation de la substance hormonale ; en d'autres termes, cela pourrait se traduire soit par une diminution de la quantité d'histamine ou de gastrine dans la muqueuse et une augmentation dans le sang, soit par une augmentation de la teneur en ces deux substances qui agiraient plus ou moins directement à ce niveau. Etant donnée la nature hormonale des produits considérés il semble plus probable que l'éthanol provoquerait à partir de la paroi de l'estomac une libération d'histamine ou de gastrine pouvant ensuite stimuler la sécrétion par voie sanguine.

Dans ces conditions nous avons pensé qu'il était intéressant d'étudier la modification de la teneur en histamine et en gastrine dans l'estomac après un traitement alcoolique. Le but de cette expérimentation est donc d'une part de mesurer les variations de ces substances, d'autre part de préciser ainsi le rôle de l'un ou l'autre des intermédiaires de la sécrétion gastrique dans le phénomène considéré.

A. Etude de l'histamine.

Le rôle de l'histamine dans la sécrétion gastrique générale a fait l'objet de nombreux travaux comme nous l'avons vu précédemment, et de même certains auteurs ont pensé que

cette substance pouvait intervenir dans le mécanisme de l'hypersécrétion alcoolique. Ainsi DRAGSTEDT et coll. (124) ont suggéré que l'alcool augmente l'acidité du suc gastrique par l'intermédiaire d'une libération d'histamine dans la muqueuse, alors que IRVINE et coll. (225), BERNARD et coll. (49) et DAVES et coll. (107) ont mesuré chez le Chien les variations de l'histaminurie ou de l'histaminémie après un traitement alcoolique. En ce qui concerne la teneur en histamine du sang, BERNARD et coll. (49) indiquent qu'elle se maintient chez le Chien à un niveau très stable de 40 µg par litre pendant environ 1 heure et demie , c'est à dire pendant la période d'hypersécrétion dans les conditions expérimentales de ces auteurs.

Pour notre part,nous avons recherché la possibilité d'une relation entre l'effet de l'éthanol sur le tractus digestif et le taux de l'histamine dans différents tissus et sécrétions de ce même tractus; dans l'hypothèse d'une libération de ses " sites actifs " par l'éthanol, l'histamine libre pourrait augmenter dans les tissus ou être déversée dans le sang et être détoxiquée en partie au niveau du foie (127) ou encore être excrétée soit dans le suc gastrique soit par voie urinaire. Pour tenter de répondre à ces diverses hypothèses , nous avons mesuré au cours du temps le taux de l'histamine dans l'estomac, le foie et le duodénum puis nous avons recherché la possibilité d'excrétion de l'histamine dans le tissu gastrique.

1°- Techniques expérimentales.

a- Les conditions expérimentales.

Nous avons utilisé 110 rats Wistar mâles, d'un poids moyen de 250 à 300 g, au jeûne depuis 17 heures, que nous avons séparés en deux groupes :

- 1er groupe (70 rats) : pour mesurer le taux de l'histamine dans différents tissus après un traitement éthanolique, l'alcool éthylique en solution à 50 pour 100 dans l'eau (V/V) a été administré par sonde gastrique à 35 rats à la dose de 2 g par Kg de poids corporel ; les animaux répartis en cinq lots ont été sacrifiés 15 secondes, 15 minutes, 1 heure, 2 heures, et 8 heures après le traitement alcoolique et nous avonseffectué les prélèvements comme il est indiqué plus loin (voir protocole expérimental) ; 35 rats traités dans les mêmes conditions avec une solution isocalorique de glucose ont servi de témoins.

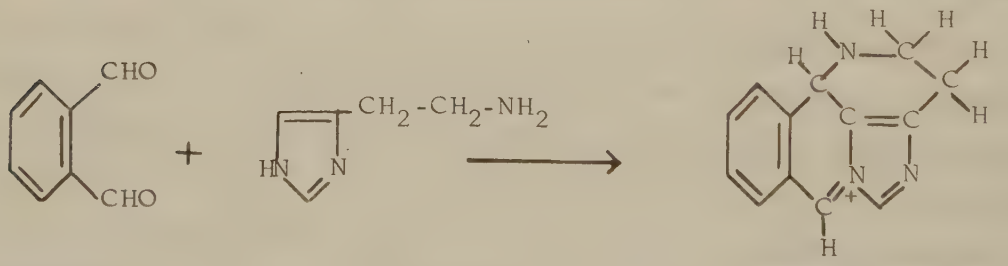
- 2ème groupe (40 rats) : pour recueillir le suc gastrique des animaux nous avons eu recours à la méthode de la ligature du pylore, telle que nous l'avons décrite précédemment (pages 21-22). A la fin de l'opération pratiquée sous une légère anesthésie à l'éther,

nous avons administré par perfusion intraveineuse lente, l'éthanol en solution à 50 pour 100 dans du chlorure de sodium à 9 g par litre, à deux doses différentes : 0,2 g et 2 g par Kg de poids corporel. De la même manière les animaux témoins ont reçu seulement une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre en quantité équivalente. Cinq heures après, l'estomac est isolé, le suc gastrique recueilli, centrifugé et son volume mesuré. Dans ce cas nous avons utilisé environ 10 rats par lot soit 40 rats au total.

b- Le dosage de l'histamine.

De nombreuses techniques ont été utilisées pour estimer la teneur en histamine des tissus ou des fluides, et on peut distinguer d'une part les méthodes biologiques, d'autre part les méthodes chimiques. BARSOUM et GADDUM (34) ont décrit en 1935 une technique biologique du dosage de l'histamine en évaluant les variations de la contraction de l'iléon de Cobaye, technique qui a été légèrement modifiée par la suite mais qui a été très utilisée et qui l'est d'ailleurs encore. Puis il a été proposé des méthodes colorimétriques dans lesquelles l'histamine réagit soit avec un sel de diazonium (393) soit avec le dinitrofluorobenzène (355). Enfin en 1959, SHORE et coll. (425) ont décrit une méthode fluorométrique qui a l'avantage d'être rapide et surtout plus spécifique que les précédentes. C'est pour ces raisons que nous avons employé dans notre travail une méthode de ce type en la modifiant légèrement pour l'adapter à nos conditions expérimentales.

Le dosage est basé sur la fluorescence du dérivé de condensation de l'histamine avec l'o - phtaldéhyde (OPT) dont le mécanisme est le suivant :



o-phtaldéhyde histamine composé fluorescent

La réaction a lieu en milieu alcalin et le composé fluorescent est stabilisé ensuite par acidification de la solution ; l'excitation a lieu à 360 mμ et la mesure de la fluorescence à 450 mμ ; SHORE et coll. (425) ont noté que l'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la concentration en histamine entre 0,005 et 0,5 μg par ml.

c- Protocole expérimental.

Immédiatement après le sacrifice, l'estomac ,le duodénum et le foie sont prélevés et pesés puis on sépare les deux zones de l'estomac , le rumen et le ventricule, très visibles chez le Rat.

Une prise aliquote de ces tissus, de 200 à 400 mg est broyée à l'aide d'un appareil ULTRA-TURRAX dans 10 ml d'acide perchlorique 0,4 N. On laisse reposer une dizaine de minutes puis après centrifugation on fait une prise de 2 ml du liquide surnageant que l'on met dans des tubes à bouchon rodé contenant 1,5 g de chlorure de sodium en poudre, 0,3 ml de soude 5 N et 10 ml de n-butanol redistillé. Ces tubes sont agités énergiquement pendant cinq minutes puis centrifugés, et la phase aqueuse inférieure est retirée par aspiration ; sur la phase organique restante on met 5 ml de soude 0,1 N saturée en chlorure de sodium et on agite pendant une minute. On prélève après une nouvelle centrifugation, 8 ml de la phase butanolique que l'on transvase dans de nouveaux tubes à bouchon rodé contenant 4,5 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N et 15 ml de n-heptane redistillé ; après agitation d'une minute on recueille la phase aqueuse inférieure sur laquelle on fera le dosage proprement dit ; pour cela on fait une prise aliquote de 0,5 à 2 ml de cette phase et on ajoute 0,4 ml de soude normale ; la fluorescence est développée par l'addition de 0,1 ml d'une solution d'o-phtaldéhyde à 1 pour 100 dans le méthanol et arrêtée quatre minutes après , en acidifiant le milieu par 0,2 ml d'acide chlorhydrique 3 N. La lecture doit ensuite être effectuée contre un Blanc dans les trente minutes consécutives.

On peut donc considérer que l'extraction comporte plusieurs étapes qui ont toutes pour but d'isoler l'histamine indépendamment des substances qui pourraient interférer au cours de la fluorescence ; l'histidine en particulier est écartée en traitant la phase butanolique par de la soude décinormale saturée en chlorure de sodium. SHORE et coll. (425) ont observé que 92 pour 100 de l'histamine sont retirés par la première extraction butanolique et qu'il y a de légères modifications de volume dues à la relative solubilité de l'eau dans le butanol ; pour corriger ces erreurs on prépare des tubes étalons contenant une quantité connue d'histamine auxquels on fait subir les différentes étapes de l'extraction et du dosage, exactement dans les mêmes conditions que pour les essais. De cette manière, les risques d'erreur sont assez faibles (425) et il

TABLEAU N°22

Effet de l'administration orale d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la quantité d'hista
dans le tractus digestif.
(chaque mesure a été effectuée sur 7 animaux).

	RATS TRAITES A L'ETHANOL					RATS TEMOINS				
	Intervalle traitement prélèvement					Intervalle traitement - prélèvemen				
	15 sec	15 mn	1 h	2 h	8 h	15 sec	15 mn	1 h	2 h	8 h
Estomac (*) (rumen)	1,43 ±0,05	1,52 ±0,57	2,14 ±0,29	2,14 ±0,88	1,50 ±0,23	1,46 ±0,24	1,75 ±0,35	2,11 ±0,35	2,13 ±0,55	1,5 ±0,1
Estomac (*) (ventricule)	11,58 ± 0,11	12,62 ± 0,78	13,73 ± 1,45	10,79 ± 1,10	8,91 ±1,05	11,53 ± 0,86	13,20 ± 0,85	14,88 ± 1,84	9,45 ±0,64	8,1 ±0,4
Foie (+)	14,40 ± 2,33	13,66 ± 1,00	13,64 ± 1,22	12,62 ± 1,51	12,75 ± 1,37	14,16 ± 1,98	13,00 ± 0,02	12,66 ± 1,12	12,00 ± 0,47	11,9 ± 1,6
Duodénum (+)	1,83 ±0,42	1,07 ±0,51	1,59 ±0,28	0,93 ±0,15	0,91 ±0,10	1,38 ±0,01	1,48 ±0,05	1,37 ±0,07	1,00 ±0,14	0,92 ±0,18

(*) Résultats en µg d'histamine pour la partie considérée de l'organe.
(+) Résultats en µg d'histamine pour l'organe entier.

n'y a que la spermidine, la spermine, l'arginine et l'agmitine qui peuvent interférer en donnant une fluorescence analogue (352) ; nous n'avons donc pas jugé utile, dans ce cas particulier, d purifier davantage notre extraction par un passage sur une colonne de résine, comme le consei lent notamment KREMZNER et PFEIFER (274) ; nous n'avons pas non plus utilisé l'alcool iso- amylique à la place du butanol pour extraire l'histamine plus spécifiquement comme l'ont récem- ment proposé ANTON et SAYRE (20).

A partir du suc gastrique, l'histamine a été extraite sur une prise aliquote de 1 m selon la même technique que celle que nous venons de décrire pour les tissus.

TABLEAU N°23

Effet de l'administration orale d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la concentration d'histamine dans le tractus digestif.

	RATS TRAITES A L'ETHANOL					RATS TEMOINS				
	Intervalle traitement - prélèvement					Intervalle traitement - prélèvement				
	15 sec	15 mn	1 h	2 h	8 h	15 sec	15 mn	1 h	2 h	8 h
Estomac (*) (rumen)	4,88 ± 0,59	4,94 ± 1,20	4,87 ± 0,53	6,01 ± 1,42	4,42 ± 0,33	4,46 ± 0,28	3,94 ± 0,41	5,22 ± 0,62	5,06 ± 0,68	4,32 ± 0,46
Estomac (*) (ventricule)	10,85 ± 2,72	13,62 ± 2,26	12,54 ± 0,90	11,82 ± 3,27	7,77 ± 1,66	11,81 ± 1,50	12,48 ± 0,61	14,89 ± 2,46	10,75 ± 1,43	7,21 ± 0,26
Foie (*)	2,06 ± 0,17	2,28 ± 0,06	1,88 ± 0,12	2,08 ± 0,21	1,99 ± 0,16	2,17 ± 0,32	2,29 ± 0,07	1,90 ± 0,14	2,01 ± 0,18	1,91 ± 0,25
Duodénum (*)	4,19 ± 0,75	3,95 ± 1,70	6,12 ± 0,81	5,18 ± 0,62	3,78 ± 0,44	4,15 ± 0,23	5,43 ± 0,92	5,87 ± 1,02	4,31 ± 0,61	4,62 ± 0,43

(*) µg d'histamine par g de tissu frais.

(Chaque mesure a été effectuée sur 7 animaux)

2°- Résultats.

a- Histamine de l'estomac, du foie et du duodénum.

L'histamine mesurée dans les tissus a été rapportée d'une part au poids de la fraction considérée de l'organe (tableau n° 22) , d'autre part à 1 g de tissu frais (tableau n° 23). La première observation très générale que l'on peut faire est que les quantités d'histamine varient beaucoup selon les tissus envisagés ; ainsi le foie entier des animaux témoins contient-il de 11,94 ± 1,69 à 14,16 ± 1,98 µg alors que nous avons noté une teneur comprise entre 0,92 ± 0,18 et 1,48 ± 0,05 µg pour tout le duodénum ; en outre il y a également des différences quantitativement très importantes dans les deux zones de l'estomac puisqu'il y a presque dix fois plus d'histamine dans le ventricule que dans le rumen. Si l'on considère la concentration d'histamine et non plus la teneur globale dans chaque organe, on peut observer qu'elle est très élevée dans la zone ventriculaire de l'estomac des rats et beaucoup moins dans les autres tissus étudiés. Par ailleurs, en considérant l'évolution du taux de l'histamine totale

dans le temps on peut souligner dans les deux parties de l'estomac quelques légères modificati bien qu'elles ne soient pas statistiquement significatives ; en effet dans le ventricule la quantit d'histamine est plus forte pendant l'heure consécutive à l'administration de glucose et un peu pl faible deux heures et huit heures plus tard ; dans le rumen, il y a moins de différences ainsi que dans le foie et dans le duodénum. Ces variations se retrouvent dans les mêmes proportions lors que les résultats sont rapportés à 1 g de tissu frais, ce qui indique que le poids de l'organe n'est pas modifié au cours de la période d'alimentation.

La comparaison entre les animaux traités à l'éthanol et ceux qui ont reçu du gluc se ne montre dans aucun des tissus étudiés, de différences statistiquement significatives et cec quelle que soit la méthode d'expression des résultats ; il faut noter cependant que chez les ra traités à l'alcool comme chez les rats témoins, on retrouve moins d'histamine huit heures après l'administration orale, mais là aussi la différence n'est pas significative.

b- Histamine du suc gastrique.

Lorsque l'éthanol a été injecté à la dose de 0,2 g par Kg de poids corporel , nou n'avons pas noté de modifications significatives de la quantité de suc , de l'histamine totale ains que de la concentration, comme on peut le voir dans le tableau n° 24 . La teneur totale en hista- mine dans le suc gastrique est en effet de l'ordre de 110 µg dans les deux lots ce qui correspo environ à 9 µg par ml.

Par contre lorsque les animaux ont reçu l'alcool éthylique à la dose de 2 g par Kg de poids corporel , c'est à dire dix fois plus que le traitement précédent, on peut observer une variation très importante de la quantité de suc sécrété : 13,12 $\pm$ 1,36 ml pour les rats témoins contre 5,13 $\pm$ 0,52 ml pour les rats traités ($P < 0,001$). La teneur totale d'histamine observ dans le suc varie par ailleurs avec la quantité de suc puisque nous avons noté 117,26 $\pm$ 8,20 µg d'histamine pour la totalité du suc des rats témoins et 60,44 $\pm$ 5,47 µg pour les rats alcooliqu soit une diminution de près de la moitié. Cependant la concentration d'histamine ne subit que pe de variations car nous avons obtenu 11,81 $\pm$ 2,37 µg par ml de suc chez les animaux témoins e 13,36 $\pm$ 1,94 µg après le traitement d'éthanol.

TABLEAU N°24

:t d'une injection intraveineuse d'éthanol sur le taux d'histamine contenue dans le suc gastrique recueilli par la méthode de la ligature du pylore chez le Rat.

Dose EtOH		0, 2 g / Kg	2 g / Kg
ntité de suc secrété en 5 heures	Témoins	13,53 ml ± 1,31 (7 animaux)	13,12 ml ± 1,36 (9 animaux)
	Traités	13,86 ml ± 1,28 (13 animaux)	5,13 ml ± 0,52 (13 animaux)
	t	0, 151	4, 097
	P	N.S.	P< 0,001
tamine totale du suc gastrique en µg	Témoins	105,27 ± 13, 44	117, 26 ± 8,20
	Traités	115,93 ± 14, 01	60, 44 ± 5,47
	t	0, 499	5, 578
	P	N.S.	P< 0,001
tamine en µg par ml de suc gastrique	Témoins	8, 53 ± 1, 63	11, 81 ± 2, 37
	Traités	10, 16 ± 1,.93	13, 36 ± 1, 94
	t	0, 560	0, 458
	P	N.S.	N.S.

3°- Discussion.

a- Histamine de l'estomac, du foie et du duodénum.

Chez le Rat la grande différence de la teneur en histamine que nous avons observée a déjà été notée par un certain nombre d'auteurs ; c'est ainsi que TELFORD et WEST (443) indiquent que le rein , le foie et le poumon contiennent peu d'histamine alors que l'estomac , l'intestin grêle et la peau en ont une forte teneur. Ces résultats ont été retrouvés dans l'ensemble par KAHLSON et coll. (246) et HALPERN et coll. (195) chez ce même animal.

La présence de l'histamine dans le foie a fait l'objet de quelques recherches et il a été remarqué par TELFORD et WEST (443) et HALPERN et coll. (195) que cet organe en contenait de 1 à 2 µg par g de tissu frais comme nous l'avons également noté. AUTUORI et ARGENTO-CERU (23) ont trouvé une valeur de 0,82 ± 0,17 µg par g et d'après ces auteurs

l'histamine hépatique serait localisée principalement dans les particules cytoplasmiques de type lysosome.

En ce qui concerne la teneur en histamine dans l'estomac des rats témoins, nous avons trouvé comme TELFORD et WEST (443) et HALPERN et coll. (195) de grandes différences entre les deux parties étudiées car la zone ventriculaire contient presque trois fois plus d'histamine par g de tissu que la zone du rumen. Cette zone ventriculaire de l'estomac de Rat a d'ailleurs quelques caractéristiques supplémentaires qu'il faut souligner : elle est le siège de la sécrétion gastrique, elle est très riche en histidine- décarboxylase (443) qui est l'enzyme permettant la formation de l'histamine à partir de l'histidine, elle ne contient presque pas de mastocytes (23) contrairement aux autres tissus ; l'origine et la forme biochimiques de l'histamine ainsi que son rôle physiologique est donc plutôt spécifique à ce niveau (195). Quant aux résultats globaux de l'histamine gastrique,nous en avons indiqué la teneur dans le tableau n° 25 d'après quelques travaux effectués au moyen de techniques diverses par différents auteurs et comme on peut le voir, les valeurs observées dans nos conditions sont à peu près du même ordre.

La légère évolution de la teneur en histamine de l'estomac au cours du temps pourrait être liée à la période d'alimentation ; nos animaux en effet sont au jeûne depuis 17 heures avant un quelconque traitement et reçoivent un genre de repas par voie intragastrique. L'épuisement apparent en histamine de la muqueuse,surtout au niveau de la zone ventriculaire, peut suggérer qu'il y a une modification de la formation de cette substance à ce niveau. CASTELUCCI (75) et PELLETIER et coll. (370) ont en effet montré chez le Rat que l'activité de cette enzyme dépend de la phase digestive et diminue entre les repas lorsque l'estomac est vide ; ils ont noté que les valeurs de l'histidine - décarboxylase sont extrêmement faibles chez l'animal à jeun comme KAHLSON et coll. (246, 247) l'avaient déjà remarqué. L'ingestion alimentaire déclenche un processus de synthèse de l'histidine décarboxylase déjà important au bout d'une heure et se maintient pendant environ cinq heures ; le taux de cette enzyme décline ensuite peu à peu jusqu'à sa valeur basale et le phénomène recommence au moment de chaque repas. Mais malgré ces résultats très nets concernant l'activité enzymatique, la teneur en histamine de l'estomac paraît indépendante de ces fluctuations comme l'ont souligné notamment TELFORD et WEST (443), KAHLSON et coll. (246, 247) et PELLETIER et coll. (370). L'histamine formée dans ces conditions ne reste donc pas dans la muqueuse et il est possible qu'elle soit distribuée dans le sang et les tissus puis excrétée plus ou moins rapidement. TELFORD et WEST (443) ont d'ailleurs calculé que , malgré sa forte teneur en histidine- dé-

TABLEAU N°25

Teneur en histamine dans les différentes zones de l'estomac de Rat d'après quelques auteurs.

Organe	Teneur en µg / g de tissus frais	Auteurs	Années	Méthodes
one pylorique	29,9	TELFORD et WEST (443)	1961	biologique
ne fundique	12,6			
queuse	31,2	KAHLSON et coll. (246)	1963	isotopique
uqueuse	81,0	KAHL SON et coll. (247)	1964	biologique
uqueuse	23	GARBARG et coll. (158)	1965	biologique
one prépylorique	32	HALPERN et coll. (195)	1965	biologique
one fundique	9			
stomac entier	27			
uqueuse	18,0	PELLETIER et coll. (370)	1965	biologique
stomac entier	19,5 - 41,1 (selon la race)	LEVINE (293)	1966	fluorométrique
one glandulaire	33,2 ± 9,3	JOHNSON (241)	1966	biologique
luqueuse	20,2	LEVINE et SENAY (295)	1968	fluorométrique
umen	4,74 ± 0,27	nos résultats		fluorométrique
entricule	11,39 ± 0,99			

carboxylase, l'estomac peut synthétiser 64 µg d'histamine par jour parce que cet organe est petit tandis que le foie en produirait 480 µg par jour et le duodénum 40 µg par jour ; le foie est donc quantitativement le lieu de synthèse le plus important chez le Rat et les différences temporaires que nous avons notées dans la quantité d'histamine, paraissent alors insignifiantes mais il faut souligner qu'il existe cependant dans l'estomac deux enzymes capables de décarboxyler l'histidine dont l'une est spécifique (377).

La comparaison des résultats concernant la teneur en histamine tissulaire entre les rats témoins et les rats traités à l'alcool n'ont pas donné, comme nous l'avons vu, de différences

significatives ; en d'autres termes cela signifie que l'éthanol ne favorise ni une décharge ni au contraire une néo-synthèse de l'histamine au niveau de l'estomac à moins qu'il y ait équilibre immédiat entre les deux phénomènes; néanmoins BERNARD et coll. (49) n'ont trouvé aucune modification du taux de l'histamine dans le sang sous l'effet de l'éthanol, ce qui tend à prouver qu'il n'y a pas de libération de cette substance dans ces conditions. Par ailleurs GARBARG et coll. (159) indiquent que l'éthanol stimule légèrement l'activité de l'histidine- décarboxylase gastrique dans les mêmes proportions que la cellulose ou l'huile mais beaucoup moins qu'un aliment complet ; dans ce sens, l'effet hypersécréteur de l'histamine, de l'alcool et d'un repas n'implique pas une analogie réelle dans le mécanisme d'action de ces stimulants de la sécrétion gastrique, contrairement aux hypothèses de DRAGSTEDT et coll. (124).

Cependant l'étude des modifications de la teneur en histamine gastrique ou de l'activité de l'histidine-décarboxylase, sous l'effet des stimulants ou des inhibiteurs de la sécrétion a fait l'objet de nombreux travaux parfois contradictoires ; en effet l'existence d'une modification de l'histamine tissulaire associée à une hypersécrétion pourrait apporter des éléments supplémentaires à l'élucidation du rôle de cette substance dans la physiologie gastrique. C'est ainsi que HEISLER et KOVACS (208) ont observé que l'administration de cortisone à des Cobayes entraîne une diminution de l'histamine gastrique qui peut expliquer l'augmentation de l'activité sécrétoire consécutive ; lorsque la gastrine est injectée à des Rats, KAHLSON et coll. (247) ont remarqué que l'hyperacidité gastrique qui en résulte, est associée à une diminution de la concentration d'histamine et à une augmentation de l'activité de l'histidine-décarboxylase dans la muqueuse ; ce résultat a été confirmé par SNYDER et EPPS (431). De même STUBRIN et coll. (437) ont montré chez le Rat que la réserpine, la gastrine, l'insuline, l'urécholine* et l'histalog* diminuent respectivement de 69 , 30, 23 , 19 et 17 pour 100 la concentration d'histamine dans la zone ventriculaire de l'estomac mais ces auteurs pensent que ce résultat n'est pas suffisant pour expliquer l'effet hypersécréteur de ces substances par la libération d'histamine. GLICK et coll. (169) ont remarqué que l'adrénaline réduisait également la teneur en histamine de la muqueuse gastrique ce qui pourrait contribuer à la formation d'ulcères que l'on obtient dans ces conditions chez le Rat. JOHNSON et OVERHOLT (242) ont de leur coté obtenu une augmentation

---

* Urécholine : agent parasympathicomimétique, dérivé de la choline.
Histalog : dichlorhydrate de bétazole.

de l'histaminémie par introduction d'acide acétique ou d'acide salicylique dans l'estomac de Chien ce qui n'est pas obtenu par un traitement avec des solutions de chlorure de sodium ou d'acide chlorhydrique.

En fait il semble relativement fréquent que l'administration de substances sécrétagogues entraîne une diminution de la quantité d'histamine associée à une augmentation de l'activité de l'histidine - décarboxylase. LEVINE et SENAY (295) ont aussi observé, toujours chez le Rat, que le " stress " est accompagné d'une activation de l'histidine décarboxylase bien que le taux d'histamine gastrique ne soit pas modifié ; ces auteurs suggèrent que le renouvellement plus rapide de l'histamine est compatible avec l'hypothèse d'une libération d'histamine à partir de la muqueuse. SVENSON et WETTERQVIST (438) ont montré que la nicotine augmentait la synthèse de l'histamine dans l'estomac de Rat et SEWING (420) a trouvé " in vitro " le même résultat avec le carbachol et la réserpine tandis que la tétragastrine et l'insuline n'affectent pas l'activité de l'histidine -décarboxylase.

Ce résultat démontre qu'il n'y a pas de corrélation stricte entre la libération d'histamine et l'activation de l'histidine-décarboxylase dans la muqueuse gastrique de Rat ; SCHWARTZ et coll. (414) pensent que la diminution de la concentration en histamine, l'augmentation de l'activité de l'histidine - décarboxylase ou l'élévation de la vitesse de renouvellement de l'histamine dans la muqueuse gastrique sont les conséquences ou le signe d'une mobilisation de l'histamine à ce niveau ; dans ces conditions, l'insuline et la gastrine par exemple, qui stimulent l'activité de l'histidine-décarboxylase entraîneraient une mobilisation de l'histamine gastrique, ce qui fait conclure à ces auteurs que l'histamine est l'ultime médiateur de la sécrétion gastrique. Comme nous l'avons vu précédemment, cette conclusion n'est pas partagée par tous les auteurs.

En définitive il paraît difficile d'associer l'effet stimulant de l'alcool,sur la sécrétion de l'estomac, à une mobilisation quelconque de l'histamine, comme cela a pu être observé avec d'autres sécrétagogues ; par ailleurs les connaissances actuelles sur ce sujet ne permettent pas à notre avis d'établir incontestablement soit que l'histamine intervienne soit qu'elle n'intervienne pas dans chaque mécanisme d'hypersécrétion ; en particulier les résultats que nous avons observés , laissent penser que l'histamine gastrique semble ne pas être concernée au cours de l'hyperactivité éthanolique.

b- Histamine du suc gastrique.

La quantité de suc obtenu dans cette expérience est semblable à celle mesurée précédemment: chez les rats témoins , le volume de sécrétion est indépendant du volume de chlorure de sodium à 9 g par litre injecté par voie intraveineuse, et l'éthanol ne provoque aucune modification à la dose de 0,2 g par Kg de poids corporel tandis qu'à la dose de 2g par Kg, il y a une diminution significative de la sécrétion comme nous l'avons déjà observée. En ce qui concerne la teneur en histamine de ce milieu, il faut souligner le fait que si la quantité totale est moins élevée après l'administration d'éthanol à 2 g par Kg, la concentration (en µg par ml de suc) est statistiquement identique. Par ailleurs nous n'avons noté aucune variation de l'histamine après un traitement alcoolique à la dose de 0,2 g par Kg quel que soit le mode d'expression des résultats. Il y aurait donc un système régulateur de libération d'histamine par rapport à la concentration ou, en d'autres termes, l'histamine serait libérée en fonction du flux gastrique. Cette observation est à rapprocher de celle de JOHNSON (241) qui a remarqué que l'histamine totale contenue dans la lumière gastrique augmente sous l'effet direct de l'acide acétique et de l'acide salicylique mais les doses de ces deux stimulants étaient telles que la muqueuse se trouva endommagée; comme l'histamine entraîne une vasodilatation et augmente la perméabilité cellulair cet auteur pense qu'elle provient du fluide interstitiel et que son passage vers la lumière est favorisée par les atteintes de la paroi gastrique. Par ailleurs BEAVEN et coll. (44) ont étudié chez le Rat au pylore ligaturé, les relations possibles entre la synthèse et l'utilisation d'histamine d'une part, l'activité fonctionnelle de la muqueuse gastrique d'autre part; ils ont conclu leurs travaux en indiquant que la quantité d'histamine de la muqueuse gastrique est le résultat d'un équilibre dynamique entre les processus de synthèse et les pertes. En fait on ne connaît pas la raison de la présence d'histamine dans le suc gastrique et la diminution globale que nous avons observée est probablement due à la diminution du flux sécrétoire; on peut donc considérer qu'elle n'a pas de grandes significations physiologiques et le résultat que nous avons obtenu dans ce cas, ne donne pas à lui seul d'explication sur le phénomène étudié.

4°- Conclusion.

D'une manière générale on peut dire que le traitement alcoolique n'entraîne pas de modifications apparentes de l'histamine gastrique; cependant comme nous l'avons indiqué, il est possible qu'une libération d'histamine soit masquée dans nos conditions par des phénomènes

le biosynthèse relativement rapides; cela supposerait une grande augmentation de l'activité de 'histidine-décarboxylase sous l'effet de l'éthanol mais il a été observé que cette condition n'était pas réalisée. On peut conclure cette partie de notre travail en disant que l'histamine gastrique ne varie pas sous l'effet de l'alcool, ce qui peut signifier que cette amine n'intervient pas d'une manière spécifique dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol; la mesure de l'excrétion urinaire de l'histamine confirmera ce résultat.

Ces conclusions se rapprochent de celles d'IRVINE et coll. (225), BERNARD et coll. (49) et DAVES et coll. (107) qui pensent que,chez le Chien, il n'y a aucune évidence d'un rôle de l'histamine dans le mécanisme considéré.

B. Etude de la gastrine.

De la même manière que nous avons tenté de mettre en évidence le rôle possible de l'histamine dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'alcool, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'influence de la gastrine ; en effet nous avons observé que l'histamine de l'estomac n'était pas modifiée par un traitement alcoolique et nous avons déjà souligné qu'un certain nombre d'auteurs ont supposé que l'alcool favoriserait une libération de gastrine ; c'est ainsi que HIRSCHOWITZ et coll. (210), WOODWARD et coll. (483), IRVINE et coll. (225), DAVES et coll. (107) et ELWIN (134, 135) ont indiqué à la suite de divers résultats sur des espèces animales différentes que l'alcool agissait probablement sur la sécrétion gastrique par l'intermédiaire de la gastrine. Mais en fait les conclusions de ces travaux reposent plus sur un raisonnement logique que sur une mesure effective de cette libération de gastrine parce que le dosage de cette hormone présente quelques difficultés et n'était en général pas connu au moment de la publication de ces résultats.

Nous avons dans ces conditions poursuivi notre travail par la mesure directe des modifications probables de la gastrine chez le Rat après avoir observé d'une part une certaine analogie de réponse sécrétoire entre la gastrine et l'éthanol, d'autre part la stabilité de l'histamine tissulaire gastrique en présence d'éthanol.

1°- Techniques.

a - Conditions expérimentales :

La dose d'alcool utilisée a été choisie après plusieurs essais préliminaires de 1 g , g et 3 g par Kg de poids corporel en solution à 20 ou 50 pour 100 dans l'eau (V/V) et nous

avons retenu finalement d'administrer aux animaux une quantité d'éthanol de 1 g par Kg de poids corporel, en solution à 20 pour 100 dans l'eau ; de cette manière il n'y a jamais de lésions tissulaires macroscopiquement visibles dans la zone glandulaire.

Plusieurs expériences ont ensuite été réalisées de la manière suivante : chaque fois un lot de 10 rats, mâles, de race Wistar d'un poids moyen de 350 g, au jeûne depuis 17 heures a reçu par sondage gastrique soit la solution alcoolique soit un volume équivalent d'eau. Trente minutes après ce traitement, les animaux ont été sacrifiés, les estomacs prélevés et pesés rapidement, puis on a isolé la partie glandulaire de chacun d'entre eux que l'on a placée en groupe dans une solution saturée d'acide picrique. La gastrine a été isolée et dosée selon les techniques décrites ci-dessous. Compte tenu de l'extraction et du dosage de l'extrait nous avons utilisé dans cette partie de notre travail, environ 100 rats Wistar mâles, d'un poids moyen de 350 g.

b - L'extraction de la gastrine.

Pour extraire la gastrine de la muqueuse gastrique de rats, nous avons adapté la méthode de GROSSMAN, TRACY et GREGORY (185). Comme l'ont noté DEBRAY et coll. (114) c'est une technique très employée parce qu'elle est plus spécifique que celle de BLAIR et coll. (54), plus simple que celle de GREGORY et coll. (178) et qu'elle a l'avantage de donner une préparation ne contenant pas d'histamine.

Le tissu gastrique conservé dans la solution d'acide picrique est broyé dans un mortier en présence de sable de Fontainebleau, avec le liquide d'extraction contenant 80 ml d'acétone, 20 ml d'eau et 4 g d'acide trichloracétique. Une fois broyé, le mélange est porté au réfrigérateur pendant une nuit puis centrifugé 10 minutes à 3000 tours ; le surnageant est recueilli et on lave 4 ou 5 fois le culot du tube avec 50 ml du liquide d'extraction précédent. Les surnageants sont tous réunis, on ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et l'ensemble est agité dans une ampoule à décanter avec trois volumes d'éther sulfurique ne contenant pas de peroxydes ; la phase aqueuse est ensuite facilement récupérable et on l'agite de nouveau trois fois avec un volume d'éther ; chaque fois la phase éther est écartée et ceci permet d'éliminer en même temps l'acide picrique. La phase aqueuse ainsi obtenue est amenée à pH 3 avec de la soude 2 N, portée au bain marie à 70° C pour chasser l'éther résiduel, puis mesurée après refroidissement ; on ajoute alors très lentement et en agitant de l'acide trichloracétique pour avoir une concentration de 4 à 5 pour 100 et il se forme un précipité que l'on laisse reposer deux heures à + 4° C. Ce précipité est recueilli par centrifugation, redissous dans 20 ml d'eau distillée, chauffé légèrement, puis refroidi on le purifie en répétant une ou deux fois le traitement par l'acide trichloracétique ; la dernière

fois on le reprend dans 10 ml d'acide chlorhydrique 0,15 N et on extrait trois fois par 20 ml d'éther en éliminant chaque fois la phase éther. La solution est amenée à pH 3 avec de la soude 2 N, chauffée légèrement et on ajuste très lentement le pH à 8 avec de la soude ou de l'ammoniaque. Après une dernière centrifugation, le surnageant est recueilli et son volume est amené à une valeur telle qu'un gramme de tissu gastrique correspond à un ml de la solution d'extraction ; celle-ci est alors conservée à- 20° C jusqu'au dosage que nous avons effectué dans les huit jours suivants.

c - Le dosage de l'extrait gastrinique.

1) travaux antérieurs.

Le dosage de la gastrine pose à l'heure actuelle quelques problèmes techniques et il est généralement utilisé l'une des deux méthodes suivantes , soit biologique soit immunologique. En 1961, UVNAS et EMAS (455) ont proposé une méthode pour doser la gastrine par voie biologique en utilisant le Chat porteur d'une canule gastrique comme animal d'expérimentation et l'histamine comme substance de référence,alors que BLAIR et coll. (56), dans les mêmes conditions emploient la gastrine. Ce type de techniques a permis à EMAS et coll.(136) d'évaluer de petites quantités de gastrine.

Dans le même but, LAI (276) et VASSEUR et PARROT (460) ont utilisé l'estomac perfusé de Rat de même que MATSUO (324) qui s'est également servi de cette méthode et qui a observé que la pentagastrine donne une réponse proportionnelle à la dose entre 3,75 et 15 µg par Kg sans troubles secondaires ; cet auteur enregistrait les variations de pH qu'il comparait par planimétrie; WILKEN et coll. (477) mesurent la gastrine par voie biologique en étudiant les modifications sécrétoires de l'estomac d'un rat anesthésié porteur d'une fistule totale; ces auteurs ont ainsi estimé la quantité de gastrine présente dans le sérum de sujets atteints du syndrome de Zollinger - Ellison , à partir de 4 à 8 expériences. JAFFE et coll. (236) et SMITH et coll. (429) ont décrit une méthode de dosage biologique de la gastrine au moyen de l'estomac perfusé de rat et détectent ainsi 10 à 20 ng de gastrine I humaine avec une limite de " fiabilité " de 30 pour 100.

Indépendamment de ces techniques biologiques, certains auteurs utilisent actuellement des techniques basées sur une réaction immunolique. C'est ainsi que Mc GUIGAN (306) a obtenu des anticorps de la gastrine par immunisation de lapin avec la partie tétrapeptidique terminale de la gastrine,conjuguée à la globuline ou à l'albumine sérique (307) de ruminant ;

puis ces anticorps sont complexés avec une gastrine marquée à l'iode ^{125} I et une différence d radioactivité permet la détermination de la gastrine. Ce genre de technique a été utilisé par ODELL et coll. (360) qui ont trouvé une concentration de l'ordre de 2 ng de gastrine par ml de sérum chez l'Homme alors que cette concentration peut atteindre 9 ng par ml chez des patients atteints du syndrome de Zollinger - Ellison (81). Cette méthode radio-immunologique est sensible, spécifique (238) et sa reproductibilité est satisfaisante d'après YALLOW et BERSON (487) mais les résultats actuels varient selon les auteurs de l'ordre du nanogramme (79) au picogramme (452).

2) travaux personnels.

Dans notre travail nous avons mesuré l'activité gastrinique de l'extrait gastrique par voie biologique comme MIGNON et coll. (330) mais nous avons utilisé deux méthodes d'étude de la sécrétion : la ligature du pylore et la perfusion de l'estomac. L'injection des extraits a été réalisée soit par la veine du pénis immédiatement après l'opération chez les animaux au pylore lié, soit par une veine jugulaire canulée après un temps de stabilisation dans le cas de la perfusion gastrique ; le volume administré de cette façon a été respectivement de 1 ml ou de 0,5 ml. Chaque extrait a été ainsi essayé sur quelques rats au pylore ligaturé pendant trois heures et sur quelques estomacs perfusés, dans la limite du liquide d'extrait dont nous disposions. Les résultats alors obtenus ont été regroupés pour pouvoir évaluer globalement l'effet de l'extrait gastrique des rats traités à l'éthanol par rapport à l'effet d'un extrait témoin.

La comparaison statistique de ces résultats a été faite par des méthodes différentes selon la technique d'étude de la sécrétion. Dans le cas du dosage des extraits par la méthode de la ligature du pylore nous avons simplement appliqué le test de t , comme précédemment, entre les résultats obtenus avec l'extrait témoin et ceux obtenus avec des animaux traités, d'autant plus que le nombre d'animaux (21 en tout) étaient à peu près également réparti entre les deux lots. Dans le cas de l'estomac perfusé nous avons mesuré la sécrétion de base pendant 60 minutes avant l'injection et pendant 150 minutes après l'injection. A partir des résultats ainsi observés nous avons décidé de comparer statistiquement les valeurs appariées de la sécrétion pendant 60 minutes avant et après l'injection ; dans ce cas le test de t n'est pas correct et nous avons utilisé la méthode des couples (413) qui consiste à comparer statistiquement les différences entre avant et après le traitement. Nous avons donc appliqué ces calculs d'une part à l'effet des extraits gastriques des rats traités à l'éthanol (14 estomacs perfusés de rats) et d'autre part à celui des extraits gastriques d'animaux témoins (5 estomacs).

3) Contrôle de la méthode de dosage.

Pour vérifier la validité de la méthode utilisée et pour tenter de déterminer approximativement la quantité de gastrine éventuellement mise en jeu dans le processus nous avons par ailleurs administré trois doses différentes de gastrine (*) à 10 rats d'un poids moyen de 350 g ; les animaux ont été préparés pour une perfusion gastrique et nous leur avons injecté par voie veineuse, dans un volume de 0,5 ml d'une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre, des quantités de gastrine de 1 µg, 2 µg et 4 µg par Kg de poids corporel ; l'ordre dans lequel ont été effectuées ces injections, a été choisi au hasard et nous avons attendu au moins une heure de sécrétion au niveau basal avant de faire un nouveau traitement.

2° - Résultats

a - Dosage de l'extrait gastrique.

1) Dosage par la méthode de la ligature du pylore.

Lorsqu'il a été injecté, par voie veineuse, 1 ml d'extrait gastrique à des rats au pylore lié, on peut voir dans le tableau n° 26 que le volume du suc obtenu ne varie pas significativement selon la nature de l'extrait. Par contre nous avons observé que l'acidité libre est significativement augmentée chez les animaux qui ont reçu l'extrait gastrique des rats soumis à l'éthanol puisque l'on a 50, 12 $\pm$ 4,48 m Eq par litre après le traitement témoin et 69,39 $\pm$ 5,42 m Eq par litre après le traitement alcoolique ($P<0,05$). Cette différence significative de l'acidité libre ne se retrouve pas sur l'acidité totale bien que celle-ci soit légèrement plus élevée chez les animaux traités que chez les témoins mais la valeur de t (1,915) ne permet pas de retenir le résultat comme statistiquement valable. La sécrétion de pepsine, quant à elle, ne subit pratiquement pas de variation selon la nature de l' injection.

2) Dosage par la méthode de la perfusion de la cavité gastrique.

Nous avons rassemblé dans le tableau n° 27 et sur la figure n° 17 l'ensemble des résultats concernant les effets d'extraits gastriques de rats témoins et de rats traités à l'éthanol

(*) Gastrine antrale de Porc (Laboratoires Eurorga).

TABLEAU N°26

Effet de l'injection intraveineuse de 1 ml d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol (1 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion de l'estomac de SHAY.

(durée de l'expérience : 3 heures).

Extraits gastriques	Volume du suc ml	Acidité libre m Eq / l	Acidité totale m Eq / l	Pepsine(t.200) mg / ml
Témoins	3, 34 ±0, 69	50, 12 ± 4, 48	91, 87 ± 5, 15	19, 44 ± 2, 58
Traités	4, 61 ±0,52	69, 39 ± 5, 42	104, 55 ± 4, 12	18, 51 ± 1, 13
t (19 degrés de liberté)	1, 482	2, 478	1, 915	0, 384
P	N.S.	P<0, 05	N.S.	N.S.

sur l'activité de l'estomac perfusé. On peut noter que la sécrétion acide est relativement assez stable dans chaque lot pendant les 60 minutes qui précèdent l'injection bien que nous ayons quelqu différences sur la moyenne entre les deux groupes de rats ; cependant si l'on considère l'erreur moyenne on peut se rendre compte que ces différences n'ont aucune valeur statistique. L'injection intraveineuse de 0,5 ml d'extrait gastrique de rats témoins ne provoque aucune modification de la sécrétion acide qui a légèrement tendance à diminuer au cours du temps. L'examen statistique pa la méthode des couples, c'est-à-dire par valeurs appariées comme nous l'avons mentionné dans l paragraphe des techniques, indique que la différence de sécrétion entre " 60 minutes <u>après</u> " et " 60 minutes <u>avant</u> " l'injection n'est pas significative (tableau n° 28) ; en d'autres termes cela confirme mathématiquement que l'extrait gastrique de rats témoins n'a aucune action sur la sécrétion de l'estomac perfusé ni dans un sens ni dans l'autre.

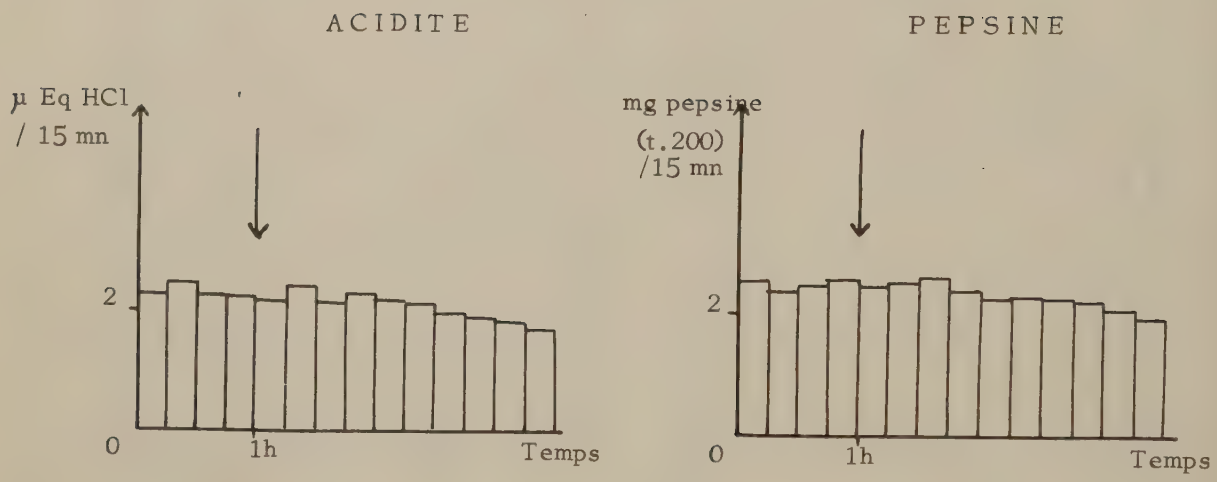
Par contre, l'injection d'une même quantité et dans les mêmes conditions d'extraits gastriques de rats traités à l'éthanol, entraîne une augmentation de la sécrétion acide, et la comparaison par la méthode des couples entre la sécrétion Avant - Après le traitement est statistiquement significative; en effet il y a en moyenne 4,06 ± 1,40 µ Eq sécrétés en supplément après

TABLEAU N°27

Effet de l'injection intraveineuse de 0,5 ml d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol (1 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion de la cavité gastrique perfusée.

	Sécrétion de base				Traitement 0,5 ml i.v.	Sécrétion après le traitement									
						15 mn	30 mn	45 mn	60 mn	75 mn	90 mn	105 mn	120 mn	135 mn	150 mn
ACIDITE en µ Eq HCl /15 mn															
Témoins (7 animaux)	2,27 ±0,79	2,45 ±0,82	2,34 ±0,77	2,28 ±0,76	Extr. gastr. de rats témoins	2,19 ±0,65	2,47 ±0,80	2,20 ±0,68	2,28 ±0,68	2,25 ±0,76	2,25 ±0,80	2,04 ±0,70	1,90 ±0,71	1,85 ±0,73	1,74 ±0,73
Traités (10 animaux)	3,11 ±0,35	2,97 ±0,29	2,98 ±0,30	2,87 ±0,32	Extr. gastr. de rats traités (EtOH 1g/Kg sol.20 %)	3,42 ±0,46	4,27 ±0,55	4,25 ±0,60	4,07 ±0,60	3,79 ±0,59	3,60 ±0,53	3,25 ±0,49	3,04 ±0,43	3,07 ±0,43	2,81 ±0,40
PEPSINE en mg pepsine (t.200) /15 mn															
Témoins (7 animaux)	2,61 ±0,65	2,43 ±0,94	2,49 ±0,89	2,52 ±0,88	Extr. gastr. de rats témoins	2,49 ±0,78	2,53 ±0,88	2,65 ±1,09	2,48 ±0,80	2,26 ±0,80	2,32 ±0,86	2,27 ±0,87	2,29 ±0,96	2,10 ±0,85	2,00 ±0,61
Traités (10 animaux)	3,31 ±0,50	3,09 ±0,47	3,14 ±0,49	3,08 ±0,50	Extr. gastr. de rats traités (EtOH 1g/Kg sol. 20 %)	3,74 ±0,69	4,67 ±0,96	5,06 ±1,11	4,48 ±0,78	4,29 ±0,69	3,67 ±0,60	3,33 ±0,56	3,17 ±0,58	3,49 ±0,79	3,07 ±0,60

EXTRAITS DE RATS TEMOINS



EXTRAITS DE RATS TRAITES

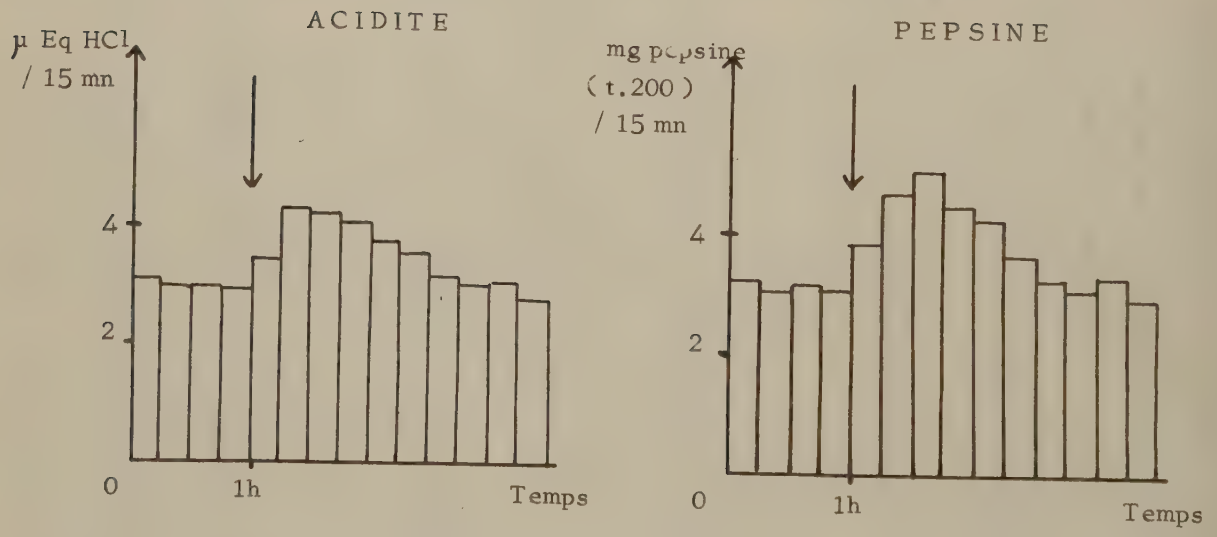


FIGURE N° 17 - Effets de l'injection intraveineuse de 0,5 ml d'extrait gastrique de rats témoins (en haut) et de rats traités à l'éthanol (en bas) sur la sécrétion de la cavité gastrique perfusée.

TABLEAU N° 28

Résultats statistiques de l'effet de l'injection d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol, sur la sécrétion de la cavité gastrique perfusée.

		ACIDITE		PEPSINE	
		Avant	Après	Avant	Après
Extraits gastriques des rats témoins	Sécrétion en 60 minutes	9,34 µ Eq ± 3,15	9,13 µ Eq ± 2,80	10,06 mg (t.200) ± 3,34	10,15 mg (t.200) ± 3,54
	Différence après-avant	- 0, 20		0, 09	
	t (méthode des couples)	0, 546		0, 403	
	P	N.S.		N.S.	
Extraits gastriques des rats traités à l'éthanol (1 g/Kg sol.20%)	Sécrétion en 60 minutes	11,94 µ Eq ± 1, 22	16,00 µ Eq ± 2, 10	12, 63 mg (t.200) ± 1, 85	17,94 mg (t.200) ± 3, 48
	Différence après-avant	4,06 ± 1,40		5,31 ± 2,06	
	t (méthode des couples)	2, 929		2, 603	
	P	P< 0,02		P< 0, 05	

l'injection de l'extrait et la valeur de t qui est 2, 929 indique un risque d'erreur inférieur à 2 pour 100.

L'examen de la sécrétion de pepsine montre une concordance des résultats par rapport à la sécrétion acide. La sécrétion basale de pepsine est en effet stable avant les injections et l'administration intraveineuse d'extraits gastriques de rats témoins n'entraîne aucune variation significative comme il est indiqué dans le tableau n° 28. Par contre l'extrait gastrique de rats traités à l'éthanol provoque une augmentation significative de l'activité protéolytique avec un risque d'erreur inférieur à 5 pour 100.

b - le dosage de la gastrine.

L'injection intraveineuse de gastrine provoque une augmentation de la sécrétion acide et pepsique de l'estomac perfusé de rat , comme on peut le voir dans le tableau n° 29. Par souci de clarté, nous n'avons porté sur ce tableau que le niveau sécrétoire horaire et la différence de sécrétion entre les périodes après et avant le traitement.

La sécrétion basale d'acide est de 10,01 ± 0,84 µ Eq d' HCl par heure et cette sécrétion horaire est respectivement de 26, 35 ± 1,54 µ Eq ; 30,78 ± 2,75 µ Eq et 42,24 ± 5, µ Eq pour des doses de gastrine de 1 µg , 2 µg et 4 µg par Kg de poids corporel . Ces valeurs ont été portées sur la figure n° 18 et nous pouvons observer que les trois points expérimentaux de chaque dose se situent sur une droite.

En ce qui concerne la sécrétion de pepsine nous avons noté que la sécrétion de base est de 7,90 ± 1,42 mg de pepsine (t.200) par heure et que l'injection i.v. de 1 µg de gastrine par Kg de poids corporel augmente la sécrétion jusqu'à 12,65 ± 2,11 mg par heure. L'administration de 2 µg par Kg de poids corporel double presque cette sécrétion mais il apparaît alors un plateau sécrétoire car 4 µg de gastrine donne la même sécrétion pepsique que 2 µg par Kg de poids corporel. Cependant si l'on considère la différence entre la sécrétion "Après- Avant", on peut voir que la moyenne de cette différence est plus importante à la dose élevée mais le résultat n'est pas significatif.

3° - Discussion.

Le résultat qui semble intéressant dans cette partie expérimentale, c'est d'une part que l'extrait gastrique de rats témoins n'a aucune activité sécrétagogue, d'autre part que celui d'animaux traités à l'alcool provoque une hypersécrétion ; en d'autres termes cela peut

TABLEAU N° 29

Effet de l'injection intraveineuse de gastrine sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rat.

Résultats rapportés à 1 heure de sécrétion.

	ACIDE (en µ Eq par heure)				PEPSINE (en mg de pepsine (t.200) par heure)			
Dose de gastrine	0	1 µg/Kg	2 µg/Kg	4 µg/Kg	0	1 µg/Kg	2 µg/Kg	4 µg/Kg
Nombre d'essais	21	7	8	6	21	7	8	6
Moyenne	10,01 ± 0,84	26,35 ± 1,54	30,78 ± 2,75	42,24 ± 5,70	7,90 ±1,42	12,65 ± 2,11	23,86 ± 7,10	23,80 ± 7,29
Différence* par rapport à la sécrétion basale		16,36 ± 1,05	20,77 ± 2,13	33,02 ± 4,56		6,13 ±1,05	14,70 ± 4,70	17,12 ± 6,41

* Cette différence a été calculée individuellement pour chaque rat, entre le niveau sécrétoire horaire consécutif à la stimulation et le niveau sécrétoire basal de l'heure précédant la stimulation.

signifier que la zone ventriculaire d'estomacs de rats témoins ne contient pas de gastrine ou du moins pas une quantité suffisante pour être dosée par les techniques employées, tandis que le traitement alcoolique provoque une augmentation de la gastrine dans le tissu gastrique. A la suite de ce résultat il se pose cependant la question de la nature même de l'extrait gastrique et de ce qu'il peut contenir comme substances susceptibles d'agir sur la sécrétion de l'estomac. Nous avons vu que la méthode d'extraction utilisée élimine en principe la présence d'histamine d'un tel extrait ; par ailleurs même si l'histamine était extraite, la quantité ne serait pas suffisante pour modifier la sécrétion soit de l'estomac au pylore lié soit de l'estomac perfusé. En effet nous avons observé dans une expérience précédente que la zone ventriculaire de l'estomac de Rat contient au maximum 15 µg d'histamine par g de tissu frais. On sait également que l'estomac de Rat n'est sensible à des injections d'histamine qu'à des doses de l'ordre de 500 µg ou même 1000 µg. Comme nous n'avons injecté dans cette expérience que 0,5 ml ou 1 ml d'extrait gastrique correspondant respectivement à 0,5 g ou 1 g de tissu frais, il apparaît donc à peu près évident que l'histamine n'est en aucun cas

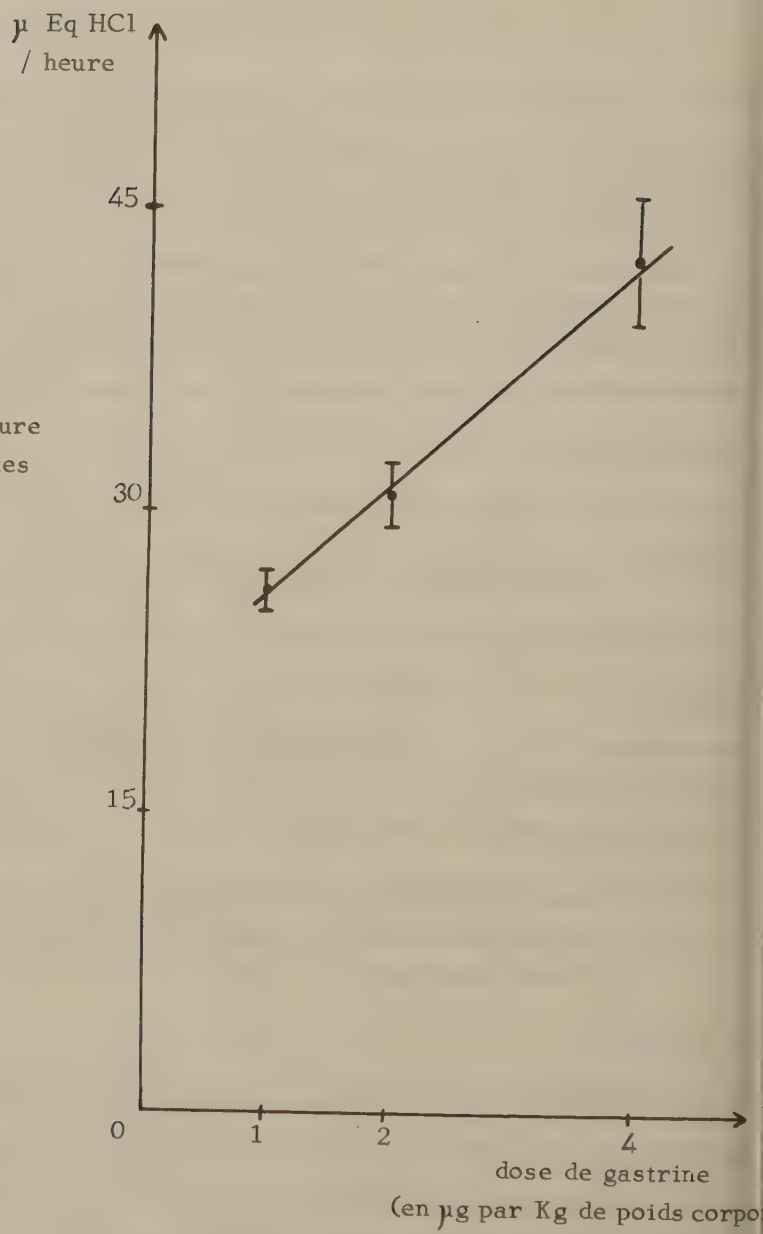


FIGURE N° 18 - Quantité d'acide sécrété par l'estomac perfusé de rat, pendant l'heure consécutive à une stimulation par différentes doses de gastrine.

responsable de l'augmentation sécrétoire observée ici. Dans ces conditions, comme le pense BLA (55) on ne voit pas quelle autre substance, à part la gastrine, présente en quantité suffisante da le tissu et extractible par des méthodes comme celles que nous avons utilisées, pourrait modifier la sécrétion gastrique.

En outre on se rend compte, également dans cette expérience, de l'utilité de disposer de plusieurs méthodes d'étude de la sécrétion gastrique, et la convergence des résultats confirme le but recherché ; il est possible en effet que l'extrait gastrique de rats témoins contienne une s tance inhibitrice de la sécrétion et que la simple comparaison des valeurs observées entraîne des conclusions éronnées; mais en fait l'examen des quantités de pepsine et d'acide secrétées de

'estomac perfusé indique que l'extrait gastrique des rats témoins ne renferme ni une substance inhibitrice ni une substance sécrétagogue ; l'hypersécrétion observée avec cette méthode tend donc à montrer que l'estomac de rats traités à l'éthanol depuis 30 minutes s'enrichit en une substance qui ne peut-être que la gastrine.

En ce qui concerne la quantité de gastrine mise en jeu dans le phénomène, on peut comparer les résultats de la sécrétion de l'estomac de rats après une injection soit d'extraits gastriques soit de gastrine pour tenter d'évaluer la quantité de gastrine contenue dans l'extrait. La différence de sécrétion acide " Après-Avant " une injection semble indiquer que 0,5 ml d'extrait gastrique entraînent une modification sécrétoire inférieure à celle que provoque 1 µg de gastrine par K g de poids corporel ; quant à la même différence concernant la sécrétion de pepsine, on peut noter que l'administration de 0,5 ml d'extrait gastrique a sensiblement le même effet que l'injection de 1 µg de gastrine par Kg de poids corporel, si bien qu'il est alors possible d'admettre que la quantité d'extrait injecté pourrait correspondre approximativement à l'effet d'une dose de gastrine comprise entre 0,5 et 1 µg par Kg de poids corporel. Par ailleurs cette quantité d'extrait gastrique injecté représente 0,500 g de tissu gastrique ce qui équivaut, compte tenu du poids des animaux, à environ la moitié d'un estomac de rat ; de plus comme la dose de 1 µg de gastrine par Kg de poids corporel représente à peu près 0,35 µg de gastrine par rat, on peut alors supposer qu'il y aurait sensiblement par animal une quantité de gastrine comprise entre 0,5 et 0,7 µg qui interviendrait dans le mécanisme de l'hypersécrétion provoquée par l'éthanol.

4° - Conclusion .

Il semble donc que l'éthanol dans ces conditions provoque une augmentation de la gastrine au niveau de la zone ventriculaire de l'estomac et que cette gastrine est au moins en partie responsable de l'augmentation sécrétoire de cet organe, consécutive à un tel traitement. Bien que dans un travail non publié, YALLOW et BERSON aient observé que la gastrinémie n'est pas modifiée par un traitement alcoolique, nos résultats confirment les hypothèses de précédents auteurs que nous avons déjà discutées à savoir que le mécanisme gastrinique intervient dans une certaine proportion dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'alcool : WOODWARD et coll.(481), DAVES et coll. (107) et ELWIN (134,135) chez le Chien, HIRSCHOWITZ et coll. (210) et IRVINE et coll. (225) chez l'Homme, admettent en effet que la gastrine joue un rôle dans les phénomènes d'hypersécrétion induits par l'éthanol; de plus il semble bien que cette intervention hormonale soit assez spécifique car WEISE etcoll. (471) ont indiqué que la réponse sécrétoire à l'alcool n'était pas influencée par la glande médullosurrénalienne, par le pancréas

ou par l'hypophyse.

La mesure de la gastrine tissulaire que nous avons effectuée et les résultats que nous avons obtenus se situent donc dans la ligne de ces auteurs mais avec la différence que nous avons tenté,pour notre part,de mesurer les variations du taux de gastrine présente dans le tissu.

III- EXCRETION URINAIRE DE L'HISTAMINE ET DE LA GASTRINE A LA SUITE D'UN TRAITEMENT ALCOOLIQUE.

Après avoir étudié les modifications de la teneur en histamine et en gastrine du tissu gastrique à la suite d'un traitement alcoolique,nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher la libération gastrique éventuelle de ces deux substances dans l'organisme ; en effet, si l'on suppose la nature hormonale de ces composés, il s'ensuit que leur sécrétion va se faire au moins en partie vers le sang si bien qu'ils seront filtrés au niveau rénal; par ailleurs la présence dans l'urine de substances d'origine gastrique est une observation connue en ce qui concerne par exemple l'uropepsine (333),l'urogastrone (266) et la gastrine (62). Dans ces conditions nous avons recherché l'existence de l'histamine et de la gastrine dans l'urine de rats traités à l'alcool en admettant, comme nous le verrons plus loin, que l'étude de l'excrétion urinaire de ces substances semble être une méthode pratique et indicative de leur décharge tissulaire, même s'il ne s'agit pas d'une méthode très rigoureuse.

A.-Excrétion de l'histamine.

Le catabolisme de l'histamine a fait l'objet de nombreux travaux et SCHAYER (407) a montré qu'il existe deux voies importantes de dégradation qui font apparaître quatre résidus principaux comme il est indiqué sur la figure n° 19. Deux d'entre eux, l'acide imidazole acétique et l'acide imidazole acétique-riboside sont également des produits du métabolisme de l'histidine et il s'ensuit que la mesure de ces substances dans l'urine ne donne pas d'indications valables et exactes de la libération d'histamine. L'autre voie du catabolisme de l'histamine implique d'abord une méthylation du noyau imidazole faisant apparaître la méthyl-histamine, transformée ensuite par une désamination oxydative en acide méthyl imidazole acétique.

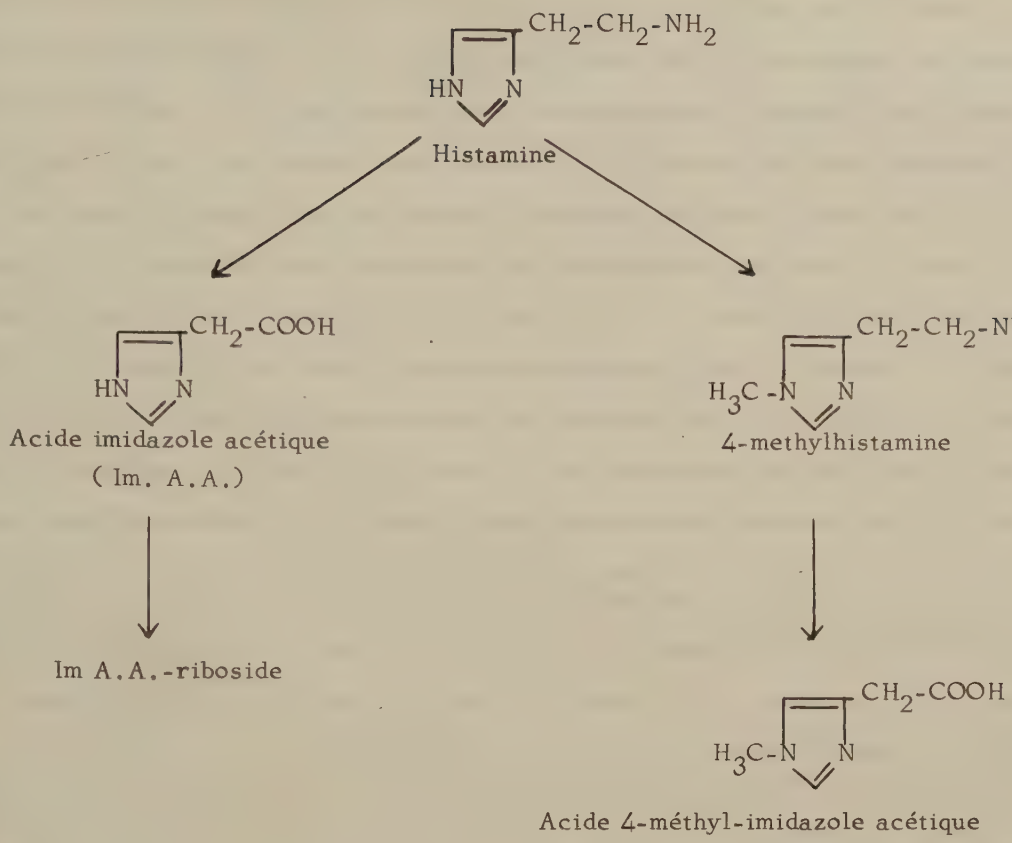


FIGURE N°19 - Composés formés au cours du catabolisme de l'histamine
(d'après SCHAYER , 407)

Ces deux composés proviennent à peu près exclusivement du métabolisme de l'histamine et il est sûr que la mesure de l'un ou l'autre peut être une estimation exacte de la production ou de la libération d'histamine mais les techniques de dosages sont peu pratiques.

Il a été montré à côté de ces principaux dérivés de l'histamine, l'existence d'autres métabolites : c'est ainsi que NAKAJIMA et SANO (347) ont identifié par des méthodes chromatographiques et électrophorétiques le 4 (5) - imidazole - 2-éthanol dans l'urine d'Homme et de Rat ; de même , LA RUE et SPENCER (284) ont mis en évidence la production d'imidazole-4-éthanol à partir de l'histamine par la levure Saccharomyces rouxii.

Lorsque l'histamine est injectée ou ingérée, la plus grande partie est dégradée selon les voies que nous venons de mentionner mais environ 1 pour 100 est excrété inchangé ; cette proportion semble être relativement constante même quand de fortes quantités d'histamine sont administrées par voie parentérale(335). C'est pour cette raison que la mesure de l'histamine urinaire a été utilisée dans l'étude des variations de cette substance dans différents cas : FRAILE et GONALONS ont étudié chez le Rat l'histaminurie au cours de conditions d'hydratation variées (149) et en fonction du sexe (171). BEALL (42) a observé une augmentation de l'excrétion urinaire de l'histamine au cours d'agressions immunologiques chez l'Homme, REY DE VINAS et LUCAS GALLEGO (382) ont noté également une augmentation de l'élimination rénale de cette substance après une adrenalectomie chez le Rat, et SJAASTAD (427) a montré que des troubles pathologiques du muscle squelettique n'entraînent pas de modification de l'histaminurie humaine.

Ces travaux justifient en quelque sorte l'estimation de l'histaminurie comme indice d'une modification de l'histamine corporelle et la méthode que nous avons employée est semblable à celle de ces différents auteurs. Nous avons donc recherché les variations de la teneur en histamine urinaire chez le Rat après deux sortes d'intoxication alcoolique : une intoxication aiguë et une intoxication chronique ; ces deux méthodes de traitement peuvent en effet donner des indications complémentaires car il est possible que les modifications physio-pathologiques dues à l'éthanol soient plus ou moins longues à apparaître et à modifier, en conséquence, l'excrétion urinaire de l'histamine.

1°- Intoxication aiguë.

a - Techniques.

Nous avons utilisé 24 rats Wistar mâles, d'un poids moyen de 320 g, préalablement habitués à vivre dans des cages à métabolisme et au jeûne 17 heures avant le traitement. On administre à ces animaux par voie œsophagienne soit une solution alcoolique à 50 pour 100 d'alcool éthylique dans l'eau (V / V) à raison de 6 g par Kg de poids corporel, soit un volume équivalent d'eau.

L'urine a été recueillie pendant 24 heures dans des flacons contenant 2 ml de toluène pour éviter l'action bactérienne; à la fin de la période de collection , elle a été filtrée, mesurée, ajustée à pH 7,5 avec de la soude 10 N et conservée au réfrigérateur à + 4° C jusqu'au dosage que l'on a cependant toujours effectué dans la journée du prélèvement.

La méthode de dosage de l'histamine urinaire a été un peu modifiée par rapport au dosage de l'histamine tissulaire fait précédemment; en effet, dans les tissus de l'appareil digestif il existe peu ou pas de substances susceptibles d'interférer au cours de la réaction de fluorescence mais il n'en est pas de même dans le cas de l'urine; c'est pour cette raison que nous avons isolé l'histamine de l'urine avant de réaliser le dosage fluorométrique.

Une prise aliquote d'urine a donc été mélangée avec un demi volume de Tampon Phosphate de sodium 0,15 M , pH 7,5 , et passée sur une colonne de résine d'Amberlite I R C 50 , selon la méthode de OATES et coll. (359) modifiée par BEALL (42). La vitesse d'écoulement a été contrôlée pour être comprise entre trois et cinq gouttes par minute, et après que le mélange urine-tampon ait traversé la colonne, nous avons rincé celle-ci trois fois avec 5 ml de Tampon Acétate de sodium 0,5 M , pH 6,5 pour éliminer les substances interférentes; l'histamine peut alors être éluée avec 7,5 ml d'acide chlorhydrique 3 N puis l'extraction et le dosage sont ensuite réalisés par la méthode de SHORE et coll. (425) telle que nous l'avons décrite précédemment (voir pages 122- 124).

La teneur en histamine a été calculée par rapport à des étalons internes selon la technique de BEALL (42) : simultanément aux processus d'isolement sur résine, d'extraction, et de dosage effectués sur un échantillon d'urine, on fait subir les mêmes opérations à un étalon contenant la même quantité d'urine que l'essai auquel on a ajouté une quantité connue d'histamine; dans cette expérimentation et après plusieurs mesures préliminaires, nous avons choisi un étalon de 0,8 µg d'histamine.

b- Résultats

Nous pouvons voir dans le tableau n° 30 que la quantité d'urine excrétée diminue assez considérablement après le traitement alcoolique auquel nous avons soumis les animaux. Cependant cette différence n'est pas statistiquement significative car la valeur du t est 1,808 pour un degré de liberté de 22; ceci est dû à une grande variation individuelle comme l'indique la valeur relativement élevée de l'erreur moyenne.

En ce qui concerne l'histamine, les modifications observées ne sont pas non plus statistiquement significatives, quel que soit le mode d'expression des résultats; en effet la concentration dans l'urine est de 0,33 ± 0,14 µg par ml chez les animaux témoins et 0,84 ± 0,21 après l'intoxication ; de même la quantité totale d'histamine excrétée en 24 heures est respectivement 3,20 ± 0,56 µg et 4,88 ± 0,86 µg chez les rats témoins et chez les rats traités ; dans chaque cas l'augmentation que l'on peut noter dans l'urine des animaux ayant été soumis à l'administration

TABLEAU N° 30

Effet d'une intoxication aiguë d'éthanol (administration orale de 6 g par Kg de poids corporel) sur l'excrétion urinaire de l'histamine.

	Rats Témoins (14 rats)	Rats Traités (10 rats)	P
ml urine en 24 heures	11,09 ± 2,43	5,81 ± 0,62	N.S.
Histaminurie en µg par ml d'urine	0,33 ± 0,14	0,84 ± 0,21	N.S.
Histaminurie totale en µg par 24 heures	3,20 ± 0,56	4,88 ± 0,86	N.S.

d'éthanol n'est pas significative à cause de la dispersion des résultats.

c- Discussion.

On peut souligner en premier lieu que dans nos conditions il n'y a aucune modification statistiquement significative des paramètres étudiés chez les rats traités à l'alcool par rapport aux rats témoins. Il faut cependant noter qu'il existe une certaine anurie consécutive au traitement éthanolique et ceci peut s'expliquer par la quantité administrée ; en effet il est connu qu'à faible dose, l'alcool éthylique provoque une augmentation du volume urinaire en inhibant l'hormone antidiurétique tandis qu'à forte dose au contraire, et c'est dans ce cas que nous nous trouvons (6 g par Kg de poids corporel), une anurie a déjà été observée (153).

En ce qui concerne l'excrétion d'histamine, il existe des fluctuations individuelles assez grandes qui peuvent masquer un effet réel car les moyennes de la concentration de l'histamine urinaire comme celles de l'histaminurie totale indiquent une libération accrue de cette amine dans l'urine ; mais on ne peut pas retenir ce résultat qui n'est pas prouvé par l'étude mathématique et on est donc amené à penser que dans nos conditions expérimentales, l'éthanol n'augmente pas de façon nette l'excrétion urinaire de l'histamine ; il faut souligner par ailleurs comme nous le verrons plus loin que la sécrétion d'histamine par voie urinaire est d'interprétation difficile,

d'une part à cause de la production d'histamine par la flore bactérienne, d'autre part à cause du rôle de l'histaminase hépatique qui peut dégrader des quantités variables de l'histamine circulante.

2° - Intoxication chronique.

a - Méthodes et techniques.

Les animaux que nous avons utilisés dans cette expérience sont des rats femelles de race Wistar, d'un poids moyen de 200 à 250 g , répartis en deux lots : un lot de 6 rats témoins et un lot de 6 rats traités à l'éthanol ; les rats ont été placés individuellement dans des cages à métabolisme et ils ont été alimentés pendant une période de 21 jours avec un régime synthétique et liquide, dont la composition et la préparation sontexposées ci-dessous. Chaque jour il a été mesuré le poids des animaux, la quantité de nourriture consommée et le volume d'urine excrétées.

Les urines ont été recueillies dans des flacons contenant 2 ml de toluène et après filtration, conservées au congélateur à - 20° C jusqu'à leur utilisation. Pendant la première semaine nous avons laissé les animaux s'adapter au régime et les analyses ont été effectuées les 7 e, 12 e, 16 e et 21 e jour après le début du traitement alcoolique.

L'histamine urinaire a été dosée selon la même technique que celle que nous avons décrite et employée précédemment, c'est-à-dire que nous avons traité l'urine par un passage sur une colonne échangeuse d'ions Amberlite I.R.C. 50 avant d'extraire et de mesurer l'histamine par la méthode fluorométrique de SHORE et coll. (425), modifiée par OATES et coll. (359) et BEALL (42), comme elle est indiquée pages 122-124. Parallèlement à la mesure de l'histamine urinaire nous avons dosé l'azote excrété par la méthode de JOHNSON (244) et la créatinine par la méthode de HARE (198) afin de pouvoir rapporter les résultats de l'histamine soit au volume, soit à l'azote, soit à la créatinine.

Régime alimentaire.

Pour définir les régimes utilisés lors de la présente expérience nous nous sommes inspirés des travaux précédents mais l'utilisation de l'alcool présente un inconvénient majeur : utilisé comme unique boisson , les rats peuvent ne pas boire, surtout si nous avons affaire à des rats dits " non buveurs " comme l'ont souligné LE MAGNEN et MARFAING-JALLAT (291). Ceci est d'autant plus important que la durée de l'expérimentation étant courte pour une

intoxication chronique , la prise d'éthanol en forte quantité doit être effective dès le début du régime. Deux méthodes sont possibles pour pallier cet inconvénient : l'une consiste à sélectionner un lot de rats buveurs mais l'expérience montre que la proportion de ces rats dans une population donnée est faible (de l'ordre de 15 à 20 pour 100) ; l'autre méthode, celle de LIEBER et coll. (298) consiste à forcer le rat à boire de l'éthanol en même temps qu'il s'alimente grâce à un régime dit semi-liquide. Le défaut majeur d'un tel régime est de ne pas être physiologique; d'abord le rat est obligé de consommer de l'éthanol, ensuite l'apport glucidique se fait uniquement sous forme de saccharose ce qui peut avoir un effet perturbateur sur les phénomènes digestifs, enfin et surtout l'apport azoté se fait sous forme de protéines solubles comme la gélatine supplémentée en acides aminés essentiels. Mais par ailleurs, l'avantage indiscutable d'un tel régime est de pouvoir contrôler étroitement les apports caloriques de l'éthanol par rapport aux calories glucidiques. C'est donc ce régime liquide que nous avons décidé d'adopter ici.

La composition des régimes est rassemblée dans le tableau n° 31 et on peut remarquer que,dans le régime alcoolique, une partie du saccharose est remplacée isocaloriquement par 50 ml d'éthanol absolu. Les valeurs caloriques respectives du saccharose et de l'éthanol étant de 4 calories par g et 7 calories par g (298), les 50 ml d'alcool ont donc remplacé 68 g de saccharose. Dans ces conditons les deux régimes sont isocaloriques et apportent environ 2,19 calories par ml, l'éthanol quant à lui étant à la concentration de 0,04 g par ml soit 0,28 calories par ml de régime.

La préparation de chaque régime est réalisée à l'aide d'un mixer et on fait ainsi 1 litre chaque fois ; cependant cette composition n'est pas stable car la gélatine n'est pas assez solubilisée et nous avons alors été obligés de " liquéfier " le milieu par protéolyse ; le procédé utilisé est le suivant : 1 g de papaïne dissous dans un peu d'eau est ajouté à chaque régime et après avoir bien mélangé on dispose l'ensemble dans une étuve à 37°C pendant 3 heures. Au terme de cette période, les régimes deviennent liquides puis la papaïne utilisée est inactivée par chauffage à 60 -70°C pendant 15 minutes. Après refroidissement les 50 ml d'éthanol sont ajoutés au régime correspondant.

Pendant la période expérimentale, les préparations sont administrées aux rats dans des biberons ; en plus de l'alimentation que nous venons de définir,chaque rat a quotidiennement à sa disposition 0,3 g de papier filtre pour éviter tout risque de diarrhée que pourrait provoquer le régime liquide.

TABLEAU N° 31

nposition des régimes liquides utilisés pour l'alimentation des rats dont on a mesuré l'histamine urinaire au cours du temps.

	Rats Témoins	Rats Traités
Gélatine supplémentée en acides aminés	177 g	177 g
Saccharose	200 g	132 g
Mélange salin d'Osborne	25 g	25 g
Hydrosol polyvitaminé Labaz	20 ml	20 ml
Huile d'Arachide	70 ml	70 ml
Huile de maïs	30 ml	30 ml
Lécithine	4 g	4 g
Ethanol absolu	0	50 ml
Eau	q.s.p. 1000 ml	q.s.p. 1000 ml

b - Résultats.

Les animaux ont consommé la nourriture proposée sans difficulté si l'on excepte une certaine inappétance pendant les premiers jours; par la suite la prise d'aliment devient plus régulière mais nous avons observé une légère différence entre les deux lots; en effet les rats recevant le régime alcoolique consomment 19,3 $\pm$ 1,7 ml par jour et les témoins 14,9 $\pm$ 1,5 ml par jour mais la variation n'est pas statistiquement significative. Dans ces conditions les animaux traités absorbent en moyenne 0,77 g d'éthanol par jour, ce qui correspond approximativement à une dose de 3 g par Kg de poids corporel par jour, et ceci pendant trois semaines.

Dans le tableau n° 32 nous avons porté les résultats obtenus les 7 e, 12 e, 16 e et 21 e jours et nous pouvons voir que l'effet diurétique de l'éthanol n'est significatif dans nos conditions que le 21 e jour ; le volume urinaire excrété ce jour là est en effet 6,25 ml $\pm$ 0,49 chez les rats traités et 3,67 ml $\pm$ 0,24 chez les rats témoins ($P < 0,05$). Il faut cependant souligner que la moyenne de la quantité d'urine est supérieure chez les animaux traités dès le début du traitement mais les larges variations individuelles empêchent que les différences soient statistiquement significatives.

TABLEAU N° 32

Evolution de l'histaminurie au cours du traitement alcoolique chronique.
(6 animaux par lot)

Jours de régime	Quantité d'urine par 24 heures		µg d'histamine par ml d'urine		µg d'histamine excrétée en 24 h		µg d'histamine par g d'azote excrété		µg d'histamine par mg de créatinine excrétée	
	Témoins	Traités	Témoins	Traités	Témoins	Traités	Témoins	Traités	Témoins	Traités
7 ème	5,00 ±0,57	6,47 ±1,96	5,06 ±1,38	8,52 ±0,35	23,27 ± 5,60	53,17 ±15,00	48,30 ±12,94	124,05 ± 25,20	3,71 ±0,31	5,84 ±1,69
12 ème	4,42 ±0,61	9,11 ±1,71	4,26 ±0,35	7,76** ±0,45	18,56 ± 2,22	69,31* ±12,71	39,93 ± 2,87	95,38** ± 9,43	3,38 ±0,21	9,63** 0,94
16 ème	5,50 ±0, 49	5,25 ±0,67	4,97 ±0,20	8,68* ±0,92	27,09 ± 2,34	43,11* ± 3,08	104,20 ± 6,58	146,53 ±18,09	3,45 ±0,47	6,98 ±1,53
21 ème	3,67 ±0,24	6,25 ±0,49	5,70 ±0,71	8,33 ±0,76	21,03 ± 3,02	51,63* ± 6,07	50,93 ± 5,13	93,92 ±11,92	3,54 ±0,42	6,53* ±0,41

* $P \leqslant 0,05$

** $P < 0,01$

En ce qui concerne l'histaminurie nous pouvons observer sur ce même tableau n° 32 que le traitement alcoolique augmente la quantité d'histamine excrétée et le phénomène est d'autant plus significatif que ceci se retrouve quel que soit le mode d'expression des résultats En effet dès le 12 e jour la concentration d'histamine dans l'urine est de 4,26 ± 0,35 µg par ml chez les animaux témoins contre 7,76 ± 0,45 par ml chez les animaux traités (P<0,01). Cette différence est toujours significative si on rapporte l'excrétion d'histamine soit à l'urine totale de 24 heures (P<0,05) soit à l'azote urinaire (P<0,01) soit à la créatine urinaire (P<0,01). Le 16 e jour du régime on note également une augmentation de l'histamine chez les animaux traités mais elle n'est statistiquement significative que si les résultats sont exprimés en concentration ou par rapport au volume urinaire total ; il en est de même le 21 e jour où la signification statistique n'est probante que lorsque les valeurs d'histamine excrétée ont été ramenées au volume urinaire total ou à la créatinine.

En d'autres termes, on peut donc dire que l'excrétion urinaire de l'histamine est profondément modifiée le 12 e jour du traitement et que l'augmentation est moins nette les jours suivants puisque la signification n'est pas toujours statistiquement valable selon les différentes méthodes d'expression des résultats.

c - Discussion.

La première observation qui apparaît dans ces résultats, c'est que la quantité d'histamine dans l'urine est très différente de celle que nous avons notée lorsque les rats ont été soumis à une intoxication aiguë ; cette variation est probablement un corollaire de la différence du régime alimentaire entre les deux expériences et il est vraisemblable que l'alimentation liquide modifie par exemple la flore intestinale entraînant ainsi des valeurs qui ne sont pas analogues. De toute façon il est difficile d'expliquer ce résultat tant qu'on ne l'aura pas résolu d'une manière précise le problème de l'origine et de la signification de l'histaminurie.

On sait par contre que l'histamine présente dans l'organisme a une double source; d'une part c'est une substance présente dans les mastocytes tissulaires et qui peut être mobilisée au cours d'une agression : les expériences de CERHOVA et coll. (78) par exemple ont montré que l'histaminémie était très augmentée au cours d'une inflammation de la peau sous l'influence d'une irradiation par des rayons ultra-violets ; d'autre part c'est une substance présente en grande quantité dans le tube digestif soit qu'elle provienne de l'alimentation soit qu'elle résulte d'une action métabolique de la flore bactérienne (42).

Dans ces conditions l'histaminurie serait le résultat des phénomènes consécutifs à la libération et au métabolisme de l'histamine par les tissus et pourrait être liée également au débit urinaire ; ainsi OATES et coll. (359) ont noté que l'histidine administrée par voie

orale chez l'Homme provoque une augmentation d'histamine urinaire due à l'activité de la flore intestinale et à la décarboxylation de l'acide aminé dans l'organisme. De toute façon lorsque l'amine est dans l'intestin, elle peut être rapidement absorbée (128) et se retrouve donc dans le sang pour être dirigée vers le lieu de dégradation ou d'excrétion au même titre que l'histamine endogène des tissus.

C'est précisément à ce niveau que se pose la question de la signification de l'histaminurie puisqu'elle apparaît comme une résultante du métabolisme d'une substance qui peut provenir d'origine différente comme nous venons de le voir.

Par ailleurs l'étude de la dégradation de l'histamine a fait l'objet de nombreux travaux et il semble certain que le foie soit le lieu prédominant du catabolisme histaminique sans pour autant négliger le rôle du rein et du tube digestif; MIYANA (338) a en effet montré chez le Lapin que les mitochondries des cellules hépatiques contiennent des enzymes réalisant la transamination entre l'histamine et le phénylpyruvate ou le p-hydroxyphénylpyruvate; MOORE et coll.(34 ont indiqué que 50 à 80 pour 100 d'histamine sanguine était détruite en un seul passage à travers le foie isolé de Chien; GUSTAFSSON et FORSHELL (191) ont noté que la méthylation de l'histamine dépendait d'une méthyltransférase isolée à partir du foie de Porc et DRAPANAS et coll. (127) ont observé que le foie de Chien dégradait de grandes quantités d'histamine arrivant par la veine porte. On peut penser dans ces conditions qu'une détérioration des cellules hépatiques entraîne une diminution de l'activité histaminasique du foie qui aurait comme conséquence un accroissement de la quantité d'histamine excrétée dans l'urine. CENACCHI et coll.(77) ont d'ailleurs montré chez le Rat qu'une intoxication par le tétrachlorure de carbone provoque une altération des enzymes hépatiques et particulièrement des enzymes responsables de la désamination de l'histamine; dans leur expérimentation, ces auteurs ont ainsi observé une augmentation très importante de l'histaminurie expliquée par la destruction des enzymes. Les résultats que nous avons no au cours du traitement alcoolique subchronique chez le Rat peuvent peut-être s'expliquer de cette façon ; il a été en effet montré par MITJAVILA et DERACHE (336) que,dans des conditions expérimentales semblables,le taux des triglycérides hépatiques des animaux normaux est de 9,2 m par g de foie frais alors que chez les animaux soumis au régime alcoolique ce taux est de 43,4 mg au bout de 30 jours d'alimentation ; il est d'ailleurs probable que les modifications apparaissent rapidement. Une telle désorganisation du métabolisme lipide sous l'effet de l'alcool ne peut être que le signe d'une altération des structures cellulaires et enzymatiques du foie et nous avons noté dans un travail antérieur (400) que le traitement alcoolique à long terme modifiait l'activité de quelques enzymes hépatiques comme la succinate deshydrogénase et l'α-cétoglutarate déshydrogénase intervenant dans le cycle de Krebs . Ainsi l'augmentation de l'excrétion urinaire de l'his-

tamine que nous avons observée dans le présent travail peut -elle être le résultat de phénomènes convergents ; d'une part il est possible que dans les conditions d'intoxication utilisées il y ait une diminution de la dégradation histaminique dans l'organisme puisque certains systèmes enzymatiques sont altérés ; d'autre part il est possible également que la flore intestinale des animaux recevant ce régime liquide et alcoolique soit modifiée ce qui entraînerait une modification du métabolisme de l'histamine au niveau intra-intestinal.

En d'autres termes ces observations signifient donc que l'augmentation de l'histaminurie observée chez les rats alcoolisés d'une manière subchronique paraît indépendante d'une décharge éventuelle de l'amine au niveau gastrique sous l'effet de l'éthanol. Mais le résultat final indique cependant que la quantité d'histamine circulante est augmentée ce qui peut entraîner une stimulation des cellules gastriques qui seraient ainsi plus fortement sollicitées.

3° - Conclusions.

Nous avons vu précédemment que le but de cette expérimentation était d'étudier l'existence ou non d'une libération d'histamine dans deux conditions de traitement alcoolique ; or les résultats obtenus concernant l'histaminurie montrent une très nette divergence selon qu'il s'agit d'une intoxication aiguë ou chronique. A dose aiguë en effet l'éthanol ne modifie pas significativement la quantité de cette amine dans l'urine tandis qu'à dose subchronique nous avons observé une augmentation. Ces résultats cependant doivent être considérés en fonction de la valeur de la technique utilisée parce que la mesure de l'histaminurie donne une vue globale du métabolisme de l'histamine sans indiquer l'origine de l'amine; les conclusions que l'on peut tirer de nos observations doivent donc être envisagées de deux façons : d'une part à dose aiguë on peut admettre que l'éthanol ne modifiant pas l'histaminurie, il ne provoque pas de libération décelable d'histamine au niveau gastrique ; d'autre part à dose subchronique d'éthanol, l'augmentation de l'histaminurie n'implique pas obligatoirement une libération de l'amine par l'estomac; dans ce cas en effet, on peut estimer qu' elle est plutôt le résultat de diverses altérations du métabolisme de cette substance, et peut-être dans une certaine mesure, de l'élevation du débit urinaire.

En conclusion il est donc permis de penser que dans nos conditions, l'alcool éthylique n'entraîne pas directement de décharge de l'histamine à partir de l'estomac et ceci vient donc confirmer, au moins partiellement, la théorie de la non intervention de l'histamine dans le mécanisme de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol.

B. Excrétion de la gastrine.

La présence de substances à activité gastrinique dans l'urine a été observée par BONFILS et coll. (62, 63) chez des patients atteints du syndrome de Zollinger-Ellison caractérisé par l'existence simultanée d'une tumeur pancréatique, d'une hyperacidité gastrique et d'un ulcère duodénal ou jéjunal. La cause de l'apparition d'un tel trouble pathologique est la productio intempestive d'une substance gastrosécrétagogue par des tumeurs cellulaires des îlots de Langherans (63) il a en effet été montré par de nombreux auteurs dont GROSSMAN et coll. (185) que les tumeurs pancréatiques de ces malades contiennent une substance à activité gastrinique tandis que des extraits pancréatiques normaux n'en contiennent pas (194) et il y a tout lieu de penser qu'il s'agit de la gastrine (441). On peut donc admettre que la libération accrue de gastrine soit par l'estomac soit par la pancréas se traduit par l'apparition d'une substance gastro-sécrétagogue dans l'urine.

Dans ces conditions nous avons supposé que si l'éthanol entraîne une décharge gastrinique au niveau de l'estomac, on doit pouvoir retrouver dans l'urine une substance stimulant la sécrétion gastrique. Nous avons donc tenté de vérifier cette hypothèse en recherchant l'apparition d'une telle substance dans l'urine de rats préalablement traités à l'alcool.

1°- Techniques.

Nous avons utilisé 120 rats mâles de race Wistar d'un poids moyen de 350 g. Un premier lot de 60 rats a permis de recueillir les urines des animaux traités selon la méthode de JAAKONMAKI et coll. (232) : l'éthanol a été administré en solution aqueuse à 50 pour 100 (V/V) aux doses de 2g , 3 g et 4 g par Kg de poids au moyen d'une sonde gastrique ; les animaux témoins ont été soumis à une intubation semblable avec la différence qu'ils n'ont reçu aucun liquide. Les rats traités (10 animaux par dose) ou témoins (30 animaux) ont été placés individuellement dans des cages à métabolisme pendant huit heures. L'urine a été recueillie, filtrée, son volume mesuré et elle a été conservée au réfrigérateur à + 4° C pour être testée dans les 24 heures suivantes.

Un deuxième lot de 60 rats a été anesthésié à l'éther et le pylore a été ligaturé selon la technique que nous avons décrite dans le chapitre des méthodes (pages 21 et 22). Immédiatement après l'opération, nous avons injecté par la veine du pénis, 0,5 ml d'urine des rats précédents. L'urine de chaque animal du premier lot a été testée sur un rat au pylore lié.

Après 4 heures de ligature pylorique, le suc gastrique a été prélevé sous une nouvelle anesthésie à l'éther, centrifugé, puis nous avons mesuré le volume, l'acidité libre, l'acidité totale et l'activité protéolytique selon les techniques déjà utilisées (pages 28 à 35).

Il faut noter que chaque manipulation d'animaux a toujours été effectuée à la même heure de la journée pour éviter les variations du rythme nyctéméral.

2°- Résultats.

Lorsque nous avons réalisé cette expérience, nous avons toujours fait une analyse d'un rat témoin à côté de celle d'un rat traité pour éviter des fluctuations possibles risquant de fausser les résultats. Dans un premier temps nous avons effectué les calculs statistiques en tenant compte de cette méthodologie et nous avons observé qu'il n'y avait pas ou peu de variations individuelles ; comme les rats témoins présentaient une bonne régularité d'excrétion et de sécrétion et qu'ils étaient tous soumis à un même traitement quelle que soit la dose d'éthanol administrée aux autres animaux, nous les avons regroupés en un seul lot dans la présentation des résultats ; ainsi nous avons par la suite comparé les valeurs témoins aux différentes valeurs obtenues chez les rats traités à 2 g, 3 g ou 4 g d'éthanol par Kg de poids corporel.

Nous pouvons voir dans le tableau n° 33 que l'éthanol provoque dans nos conditions expérimentales une augmentation significative ($P<0,001$) du volume urinaire excrété par rapport aux valeurs témoins et ceci aux trois doses d' alcool utilisées ; en effet les animaux témoins sécrètent 0,80 ml d'urine en 8 heures et les animaux traités sécrètent également en 8 heures de 3,14 à 3, 98 ml sans que l'on note de modifications nettes en fonction de la quantité d'alcool éthylique ingéré ; par ailleurs dans un travail préliminaire au cours duquel nous avions administré 1 g d'éthanol par Kg de poids corporel dans les mêmes conditions, nous avions également observé une diurèse du même ordre que celles que nous avons remarquées pour des doses plus élevées.

Les analyses effectuées sur le suc gastrique des rats ayant reçu l'urine des animaux traités à 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel ne montrent aucune variation significative du volume de sécrétion, de l'acidité libre, de l'acidité totale et de l'activité protéolytique par rapport aux valeurs observées chez les animaux témoins. Par contre l'urine des rats traités à la dose de 3 g d'éthanol par Kg de poids corporel entraîne des modifications significatives comme il est indiqué dans le tableau n° 33 et sur la figure n° 20. En effet le volume du suc est de 7,00 ml pour les 4 heures de ligature du pylore alors que les animaux témoins ne sécrètent dans les mêmes conditions que 3,92 ml ($P<0,001$) ; de même l'acidité libre et l'acidité totale exprimée en m Eq

TABLEAU N°33

Etude du pouvoir gastrosécrétagogue de l'urine de rats traités à différentes doses d'éthanol.

Traitement	Témoins	EtOH 2g/Kg	EtOH 3g/Kg	EtOH 4g/Kg
Nombre de rats	30	10	10	10
Volume d'urine				
ml en 8 heures	0,80	3,14	3,71	3,98
t		6,696	5,597	7,047
P		< 0, 001	< 0,001	< 0,001
Rats au pylore ligaturé et injection intraveineuse de 0,5 ml d'urine des rats précédents				
Nombre de rats	30	10	10	10
Volume du suc				
ml en 4 heures	3,92	4,42	7,00	4,96
t		0,579	3,542	1,295
P		N.S.	< 0,001	N.S.
Acidité libre				
m Eq / l	46,33	44,01	76,09	66,05
t		0,366	5,285	3,223
P		N.S.	0,001	< 0,01
Acidité totale				
m Eq / l	88,92	85,86	103,91	106,58
t		0,547	2,913	3,524
P		N.S.	< 0,01	< 0,01
Pepsine				
mg (t.200)/ml	25,13	22,36	27,69	27,96
t		0,973	0,971	0,981
P		N.S.	N.S.	N.S.

t : valeur du t (test de Student).

par litre sont statistiquement plus élevées tandis que la quantité de pepsine n'est pas modifiée. Quant à la sécrétion gastrique des animaux ayant reçu 0,5 ml d'urine de rats traités à 4 g d'éthanol par Kg de poids corporel, nous avons observé que le volume du suc n'est pas statistiquement plus important que celui des animaux témoins, mais l'acidité libre et l'acidité totale sont significativement plus élevées avec un risque d'erreur inférieur à 1 pour 100. En ce qui concerne l'activité pepsique nous n'avons pas noté non plus dans ce lot de différences notables par rapport aux animaux témoins.

3° - Discussion.

L'augmentation du volume urinaire que nous avons observée chez les animaux soumis à différentes doses d'alcool éthylique doit faire l'objet d'une étude critique; il faut souligner en effet que les animaux témoins n'ont reçu aucun liquide, alors que la quantité de la solution alcoolique administrée aux rats traités est de l'ordre de 1,8ml; 2,6 ml et 3,4 ml pour des doses d'éthanol respectives de 2 g, 3g et 4 g par Kg de poids corporel. On pourrait penser dans ces conditions que la polyurie des animaux traités soit due à ces volumes de liquide administré ; or cette hypothèse ne peut pas être retenue d'une part parce que la différence de la diurèse entre les rats témoins et les rats traités est indépendante de la quantité de la solution reçue, d'autre part parce que le volume urinaire ne varie pas significativement en fonction des différentes doses d'alcool.

On peut donc admettre que dans nos conditions expérimentales précises, l'effet de l'alcool sur la quantité d'urine est sous la dépendance de ce qu'il est convenu d'appeler la " loi du tout ou rien " puisque le niveau sécrétoire est semblable aux trois doses d'éthanol utilisées.

Par ailleurs en considérant les résultats de la sécrétion gastrique des animaux ayant reçu 0,5 ml d'urine on peut noter que l'éthanol à la dose de 3 g et 4 g par Kg de poids corporel favorise le pouvoir gastro-sécrétagogue de l'urine (P.S.U.) en augmentant particulièrement l'acidité tandis qu'à la dose de 2 g on n'enregistre aucune variation. La question se pose alors de savoir à quelle substance est due ce P.S.U. positif. La présence d'alcool dans l'urine, en premier lieu, ne peut pas être tenue comme responsable de ce résultat, pour trois raisons : d'abord parce que l'excrétion urinaire de ce corps est très faible comme l'a montré GAILLARD (153) ensuite parce que nous avons observé dans la deuxième partie de ce travail que l'éthanol injecté par voie intraveineuse n'augmente pas la sécrétion de l'estomac de SHAY (voir page 54)

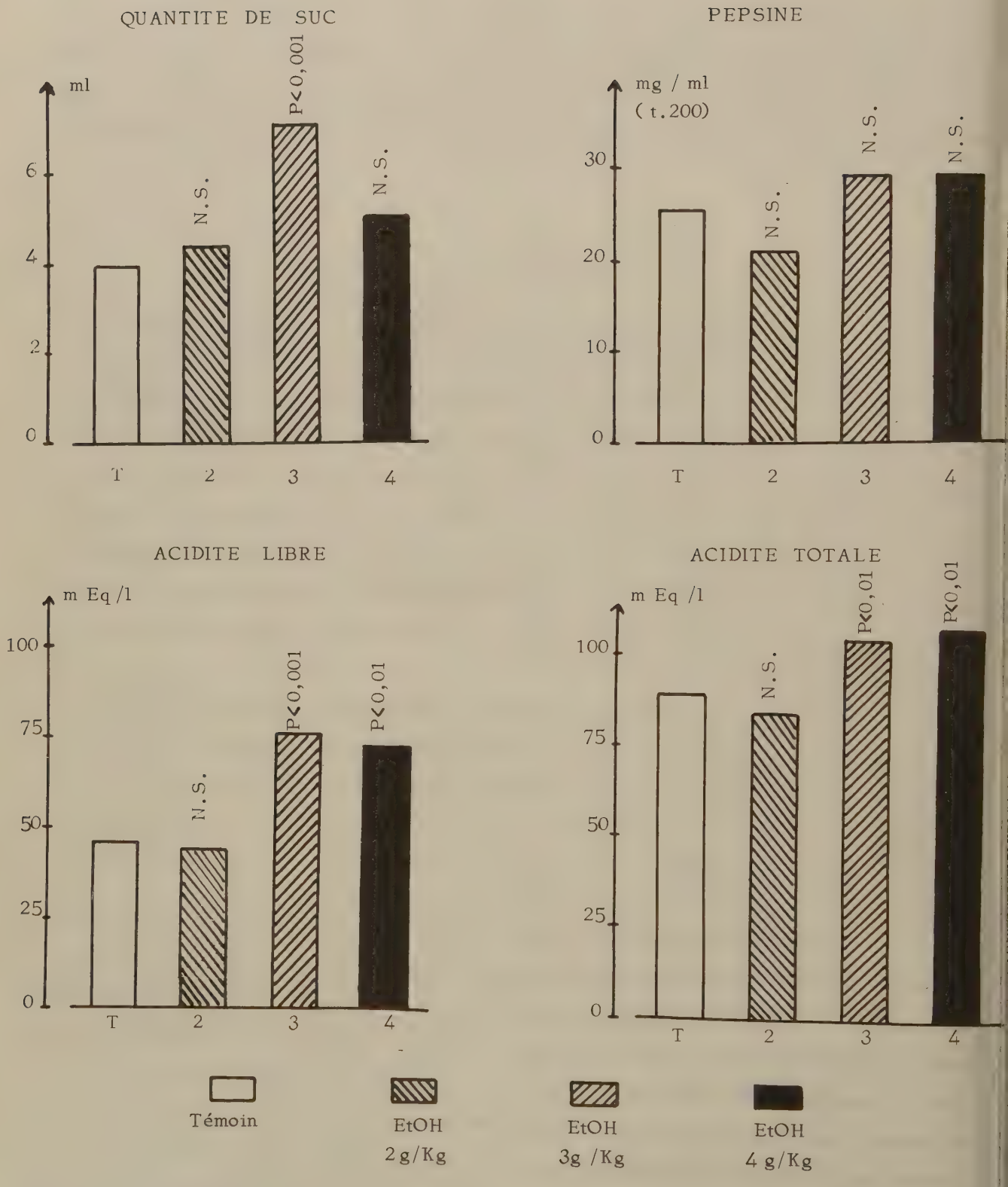


FIGURE N° 20 - Effet de l'urine de rats traités à différentes doses d'éthanol, sur la sécrétion de l'estomac au pylore ligaturé.

nfin parce que dans l'expérience présente il n'y a pas de modifications proportionnelle entre a quantité d'alcool administré aux animaux du premier lot et la réponse gastrosécrétoire des ats du deuxième lot (tableau n° 33). Quant à l'histamine elle ne peut pas être non plus la ause de l'hypersécrétion,également pour trois raisons : d'abord parce que nous avons noté dans e paragraphe précédent que l'histaminurie n'est pas significativement modifiée par un traitement lcoolique, ensuite parce que la quantité d'histamine dans l'urine est de l'ordre de quelques µg, nfin et surtout parce que cette substance à faible dose est incapable de stimuler la sécrétion astrique du rat qui on le sait est histamino-réfractaire.

Dans ces conditions on est donc amené à penser que c'est une substance du type astrinique, ou la gastrine elle-même, qui est l'élément responsable du P.S.U. positif que nous vons observé, comme dans les tests effectués par BONFILS et coll. (62,63) sur les urines de ujets atteints du syndrome de Zollinger-Ellison. En effet,le poids moléculaire de la gastrine 'est pas un obstacle à son excrétion rénale d'autant plus qu'il peut seulement s'agir à ce niveau- à, d'une fraction encore active de la molécule ; les essais de purification du facteur responsable nt été effectués par BADER et coll. (25) et VATIER et coll. (461) à partir d'urine de sujets tteints du syndrome. Les méthodes utilisées dans ce but comprennent une extraction chlorofor- nique et une séparation chromatographique soit sur une colonne de Florisil soit sur une colonne le Sephadex ; la façon dont est préparé l'extrait urinaire par ces auteurs, l'absorption en ultra- violet à 280 mµ et le faible poids moléculaire laisse penser que le support de l'activité biologique st un polypeptide (461). Il est sûr par ailleurs que l'isolement de ce facteur sécrétagogue à partir de l'urine de rats pose quelques problèmes quantitatifs;cependant les résultats du P.S.U. des rats traités à l'éthanol dans nos conditions peuvent être rapprochés de ceux du P.S.U. des sujets atteints du syndrome de Zollinger-Ellison. Ainsi, bien que le facteur P.S.U. soit constitué d'une partie non gastrinique, il semble probable que l'hypersécrétion gastrique induite par l'étha- nol chez le Rat,soit due au moins partiellement et dans certaines conditions,à la gastrine dont la libération accrue entraîne son apparition dans l'urine.

C. Discussion des résultats obtenus au sujet de l'excrétion urinaire de l'histamine et de la gastrine.

Les résulats obtenus au sujet de l'excrétion urinaire de l'histamine et de la gastri- ne doivent être confrontés pour tenter de mieux expliquer le mécanisme du phénomène que nous nous sommes proposés d'étudier. Nous avons en effet noté que la mesure dans l'urine de ces deux substances est une méthode pratique pour déceler leur libération à partir de certains tissus de

l'organisme et nous avons indiqué en outre qu'il fallait faire quelques réserves au sujet de l'histaminurie. Il n'en reste pas moins vrai que l'on peut considérer que le traitement alcoolique ne provoque pas une augmentation de l'excrétion de l'histamine urinaire spécifiquement due à une mobilisation ou à une libération de cette substance par l'estomac, tandis que nous avons observé la présence de gastrine, ou d'un corps physiologiquement identique, dans l'urine de rats alcooliques. Il faut ajouter que les animaux traités par l'éthanol à des doses de 2 g par Kg de poids corporel ne présentent pas un P.S.U. positif tandis que des doses de 3 et 4 g par Kg entraînent la positivité du test. Ce résultat peut donc signifier que dans les modalités de cette expérience, une faible dose d'éthanol ne provoque pas une sécrétion gastrinique décelable par la méthode utilisée, alors que des doses plus élevées augmentent la décharge de gastrine que l'on retrouve dans l'urine.

Il s'ensuit donc dans ces conditions que la gastrine semble bien être l'intermédiaire hormonal de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol, ce qui confirme expérimentalement les hypothèses analogues d'HIRSCHOWITZ et coll. (210), WOODWARD et coll. (483), IRVINE et coll. (225), DAVES et coll. (107) et ELWIN (135).

IV- CONCLUSION SUR LE ROLE DES INTERMEDIAIRES.

L'ensemble des travaux présentés dans ce chapitre avaient pour but d'étudier ou de vérifier le rôle éventuel d'une substance hormonale dans le mécanisme de l'effet éthanolique au niveau de l'estomac de rat ; en effet nous avons observé précédemment que l'éthanol intervenait peu d'une manière directe sur la cellule et que l'innervation vagale n'était pas indispensable au phénomène ; c'est pourquoi nous avons tenté de mettre en évidence, l'influence d'une hormone dans cette action gastrique de l'alcool.

Les différentes méthodes utilisées dans cette intention nous ont permis d'approcher le phénomène sous des angles variés si bien que la confrontation globale de nos résultats peut nous donner d'utiles renseignements : l'étude comparative des effets de l'éthanol, de l'histamine et de la gastrine ne nous a pas permis de tirer des conclusions très nettes car l'analogie observée entre la réponse gastrique de l'éthanol et celle de la gastrine n'a malgré tout qu'une valeur arbitraire. Par contre la mesure de l'histamine et celle de la gastrine nous ont indiqué que le taux d'histamine de l'estomac n'était pas modifié après un traitement alcoolique, tandis que dans des conditions semblables, la quantité de gastrine présente dans le tissu gastrique était plus élevée chez des rats traités par une solution alcoolique que chez des rats témoins. Comme nous l'avons déjà mentionné

ceci peut indiquer que l'éthanol entraîne soit une formation intense au niveau de l'antre soit une mobilisation rapide de la gastrine circulante, soit les deux à la fois, dont la conséquence serait une augmentation de la gastrine susceptible de stimuler les cellules gastriques.

La mesure de l'excrétion urinaire de l'histamine et de la gastrine enfin, nous a confirmé que l'éthanol n'entraîne pas une variation de l'histamine tandis que le taux de gastrine libérée à ce niveau augmente significativement.

Devant la concordance assez nette de ces résultats on peut donc tenter d'expliquer le mécanisme effectif mis en jeu par l'alcool pour augmenter la sécrétion gastrique : l'éthanol augmente la présence de gastrine qui agit sur les cellules de l'estomac et cette hormone est ensuite éliminée par voie urinaire ; on peut donc conclure que c'est bien la gastrine qui intervient dans le phénomène étudié et que l'histamine n'y joue apparemment aucun rôle. Cela confirme par ailleurs les travaux de SCHAPIRO et coll. (404) qui ont montré que l'alcool éthylique placé dans l'antre de l'estomac de Chien augmente la sécrétion gastrique en même temps que la sécrétion pancréatique; les résultats de ces auteurs ne peuvent s'expliquer que par un mécanisme gastrinique dans lequel l'hormone serait libérée au niveau antral dans le sang ; elle stimulerait ainsi la sécrétion des cellules fundiques et des cellules pancréatiques puisque l'on sait,en effet,que la gastrine a une action stimulante sur le pancréas en augmentant notamment la sécrétion des enzymes (459).

En bref, les résultats que nous avons observés dans ce chapitre peuvent donc se résumer en deux points :

1°) L'histamine n'a pas d'action dans le mécanisme de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol.

2°) La gastrine,par contre,paraît être l'hormone qui intervient dans ce mécanisme parce que sa teneur est augmentée dans le tissu gastrique et son élimination urinaire est accrue après un traitement alcoolique.

CHAPITRE III

ROLE DU METABOLISME DE L'ETHANOL DANS LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE

I - EFFET DE L'ETHANOL SUR LA TENEUR EN NAD^+ ET EN $NADH_2$ DANS L'ESTOMAC LE FOIE ET L'INTESTIN CHEZ LE RAT.

A. Techniques.

B. Résultats.

C. Discussion .

II- EFFET DE L'ETHANOL SUR L'ACTIVITE DE L'ALCOOL DESHYDROGENASE DANS L'ESTOMAC, LE FOIE ET L'INTESTIN CHEZ LE RAT.

A. Effets d'une intoxication aiguë d'éthanol.

1°-Techniques.

2°-Résultats.

3°-Discussion.

B. Effets d'une intoxication chronique d'éthanol.

1° - Techniques.

2° -Résultats.

a - Effets sur la croissance.
b - Consommation alimentaire.
c - Effets sur la composition corporelle.
d - Effets sur l'activité de l'alcool deshydrogénase.
e - Effets sur la sécrétion gastrique.

3° - Discussion.

a - Croissance pondérale et consommation alimentaire.
b - Composition corporelle.
c - Alcool déshydrogénase.
d - Sécrétion gastrique.

4° - Conclusion.

III- DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS.

Chapitre III

ROLE DU METABOLISME DE L'ETHANOL DANS LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION GASTRIQUE

Le métabolisme de l'alcool éthylique dans l'organisme est un phénomène maintenant bien connu et il a été mis en évidence plusieurs voies de dégradation qui font intervenir des systèmes enzymatiques différents; bien qu'il n'entre pas dans le cadre de ce travail de faire une revue exhaustive de tous les résultats concernant ce sujet, nous en citerons cependant les grandes lignes. En premier lieu il peut y avoir, en présence d'alcool-deshydrogénase, une deshydrogénation de l'éthanol qui se transforme en acétaldéhyde, de la manière suivante:

$$CH_3 - CH_2OH + NAD^+ \rightleftharpoons CH_3CHO + NADH + H^+ \qquad (I)$$

La deuxième voie possible de catabolisme, suggérée par KEILIN et HARTREE (255), consiste en une oxydation péroxydasique sous l'influence d'une catalase et la réaction peut s'écrire:

$$CH_3 - CH_2OH + H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} CH_3CHO + 2\,H_2O \qquad (II)$$

Il existe aussi dans les microsomes hépatiques un système capable d'oxyder l'éthanol et le méthanol dont le processus probable pourrait être le suivant d'après ORME-JOHNSON et ZIEGLER (362) :

$$CH_3 - CH_2OH + NADPH + H^+ + O_2 \longrightarrow CH_3CHO + NADP^+ + 2\,H_2O \qquad (III)$$

On peut remarquer que ces trois réactions d'oxydation aboutissent chacune à une

production d'acétaldéhyde mais cette première étape du métabolisme de l'alcool est transitoire parce que l'acétaldehyde est très rapidement dégradé.

KAMIL et coll. (251) ont mentionné par ailleurs une voie métabolique sans oxydation car ils ont observé la formation puis l'excrétion urinaire d'éthyl-glucuronide après une ingestion d'éthanol.

Parmi ces différentes possibilités de dégradation, c'est celle qui fait intervenir l'alcool déshydrogénase (ou ADH) que l'on peut considérer comme la plus importante; WONG et WILLIAMS (480) en ont précisé le mécanisme biochimique et il a été calculé que la quantité d'enzyme pure, isolée à partir du tissu hépatique seul, est suffisante pour justifier le métabolisme effectif de l'éthanol chez l'animal. Les autres réactions, quant à elles, ne jouent donc qu'un rôle très minime dans la dégradation de l'alcool.

Dans ces conditions nous nous sommes intéressés au métabolisme de l' éthanol par la voie de l'ADH qui fait apparaître, comme on peut le noter dans la réaction (I) , du nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit ($NADH_2$) à partir du nicotinamide-adénine-dinucléotide oxydé (NAD^+). De plus cette enzyme est plus largement répandue qu'on avait pu d'abord le croire et des travaux récents ont montré qu'elle pouvait se trouver dans de nombreux tissus autres que tissu hépatique ; ainsi SPENCER et coll. (433) ont indiqué que la teneur en ADH dans le foie de Rat était de l'ordre de 2 à 5 unités par mg de protéine, quel que soit l'âge de l'animal, mais que l'estomac de Rat adulte en contenait 26,0 unités par mg de protéine ; FAZEKAS et RENGEI (138) en recherchant chez le Rat la présence d' ADH dans le cerveau, la peau, le muscle, la rate, le foie, le cœur, les reins, les poumons, le tissu adipeux et les glandes surrénales ont noté que seuls le foie, le cœur, le muscle et les reins contenaient cette enzyme. MEZEY et coll. (329) ont détecté l' ADH principalement dans le foie de Rat, mais aussi dans la muqueuse gastro-intestinale et ils ont noté que la bile en contenait après une intoxication hépatocellulaire provoquée par exemple par le tétrachlorure de carbone. MOSER et coll. (344) ont montré également la présence d'ADH surtout dans le foie, mais ils ont observé en outre une légère activité alcool déshydrogénasique dans le tube digestif, le poumons, le rein, la rate et la prostate chez l'Homme. Ces auteurs ont de plus souligné l'existence d'isoenzymes correspondants dans le foie chez l'Homme, le Singe rhésus, le Cheval, la Vache et le Poulet alors qu'ils n'en ont pas observé chez le Porc, le Cobaye, le Rat, la Souris, la Grenouille et le Brochet (344, 469). Il apparaît donc que l'alcool peut être métabolisé dans des sites extra hépatiques comme l'ont souligné MISTILIS et BIRCHALL (334) et la conséquence directe de cette caractéristique est une modification de la teneur en NAD^+ et en $NADH_2$ dans les tissus responsables ; c'est la raison pour laquelle de nombreux auteurs ont mesuré le taux de ce coenzyme pour déterminer l'activité de

l'ADH et c'est ainsi que FAZEKAS et RENGEI (139), KRAEMER et DEITRICH (272), BAXTER et HENSLEY (40) et BOEHLE (59) ont observé une diminution de la quantité du NAD^+ dans différents tissus après un traitement alcoolique et ont rapproché ce résultat de l'activité alcool déshydrogénasique.

A la suite de ces résultats,nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier la dégradation enzymatique de l'éthanol et de considérer l'évolution du rapport NAD^+ / $NADH_2$ dans la muqueuse gastrique. En effet,si l'estomac est effectivement un lieu de catabolisme de l' alcool éthylique, il est possible que l'augmentation du nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit ($NADH_2$) entraîne une modification de la formation et de la sécrétion des ions H^+ par ce tissu. Comme nous l'avons noté précédemment, la sécrétion des cellules pariétales est le résultat d'un métabolisme actif et spécifique et il est probable qu'un apport supplémentaire de $NADH_2$ à ces cellules provoque plus ou moins largement une hypersécrétion d'ions H^+. En d'autres termes,si le métabolisme de l'éthanol fait apparaître un accroissement de $NADH_2$ dans l'estomac on peut penser que ce cœnzyme réduit participe dans une certaine mesure à l'hypersécrétion consécutive, conjointement aux autres facteurs que nous avons déjà mentionnés. C'est la raison pour laquelle nous avons tenté de vérifier cette hypothèse dans différentes conditions d'intoxication et en utilisant plusieurs méthodes que nous présenterons successivement.

Dans une première partie, nous avons mesuré les variations de la teneur en NAD^+ et en $NADH_2$ après un traitement alcoolique aigu et dans une deuxième partie nous avons contrôlé si les modifications du taux de ces corps dans l'estomac étaient la conséquence de l'activité de l'alcool déshydrogénase. A titre de complément nous avons effectué ces estimations d'une part dans le tissu hépatique pour comparer le métabolisme de l'éthanol dans l'estomac par rapport à celui du foie, d'autre part dans l'intestin grêle pour contrôler une spécificité locale possible de la dégradation de l'alcool. En résumé nous allons présenter ce travail de la manière suivante:

1°) Effet de l'éthanol sur la teneur en NAD^+ et en $NADH_2$ dans l'estomac, le foie et l'intestin chez le Rat.

2°) Effet de l'éthanol sur l'activité de l'alcooldéshydrogénase dans ces mêmes tissus.

I - EFFET DE L'ETHANOL SUR LA TENEUR EN NAD^+ et en $NADH_2$ DANS L'ESTOMAC, LE FOIE ET L'INTESTIN CHEZ LE RAT.

L'étude de l'effet de l'éthanol sur la teneur en NAD^+ et en $NADH_2$ a été effectuée en premier lieu car une modification de la sécrétion gastrique pourrait être liée directement

à une variation éventuelle de NAD^+ et de $NADH_2$. Par ailleurs nous avons noté précédemment que différents auteurs ont utilisé cette méthode pour rechercher un changement de l'activité de l'alcool déshydrogénase en présence d'éthanol. Ce travail nous permettra donc d'abord de mettre en évidence l'existence supposée d'un catabolisme alcoolique au niveau de l'estomac et ensuite de noter, le cas échéant, une augmentation de la quantité de $NADH_2$ réduit qui pourrait être disponible pour la sécrétion gastrique.

A. Techniques.

Nous avons utilisé 18 rats Wistar, mâles, d'un poids moyen de 300 g. Ces rats, au jeûne depuis 17 heures, ont été traités par sonde gastrique avec une solution aqueuse d'éthanol à 50 pour 100 à raison de 2 g d'alcool par kilogramme de poids corporel ou avec un volume équivalent d'eau. Puis 15 minutes après ce traitement, les animaux ont été sacrifiés par décapitation et on prélève immédiatement le foie, l'estomac et l'intestin grêle que l'on pèse. On fait alors deux prises d'essai de 0,5 g l'une pour extraire le NAD^+, l'autre pour le $NADH_2$. Il est à noter que les prises d'essai ont toujours été faites au même endroit dans le tissu, c'est-à-dire que nous avons prélevé les quantités nécessaires soit dans le grand lobe du foie, soit dans la zone ventriculaire de l'estomac, soit dans la première partie de l'intestin grêle ; cette précaution a été prise pour éviter toute variation possible de ces constituants en fonction de leur localisation tissulaire.

La méthode d'extraction utilisée est celle de JEDEIKIN et WEINHOUSE (237) modifiée par GRIFFATON (182) que nous avons adaptée à nos conditions expérimentales. Pour extraire le NAD^+, une prise aliquote de chaque tissu a été immédiatement placée dans un tube contenant 3 ml de tampon phosphate 0,05 M pH 5,4 et 1 ml d'eau, préalablement porté à la température de 100°C en l'immergeant dans un bain marie bouillant. Cette température est maintenue pendant exactement 1 minute, ce chauffage ayant pour but de détruire les NADases tissulaires ; au moyen d'un appareil ULTRA- TURRAX, l'homogénéisation est alors aussitôt réalisée pendant 30 secondes puis le milieu est refroidi dans un bain de glace pilée et enfin centrifugée à + 4° C pendant 15 minutes à 7.000 g. L'extraction du $NADH_2$ se fait de la même manière avec la seule différence qu'elle est réalisée dans du tampon phosphate 0,05 M pH 8,7.

Le dosage proprement dit a été effectué au spectrophotomètre UNICAM SP 500 à 340 mμ par voie enzymatique.

L'estimation du NAD a été faite directement dans les cuves de l'appareil sur une prise aliquote de 1 ml du surnageant précédent du liquide d'extraction, à laquelle on a ajouté 0,1 ml d'une solution d'éthanol à 10 pour 100 ; 1, 5 ml de tampon pyrophosphate 0,1 M pH 9,0 et

0,3 ml d'eau. Après une première lecture de la densité optique, on ajoute 0,1 ml d'une solution d'alcool-déshydrogénase (dilution extemporanée au 1/20 d'une solution contenant 14,7 mg d' ADH cristallisée FLUKA dans 0,5 ml de tampon phosphate 0,0125 M pH 7,2) et on suit l'évolution de la densité optique jusqu'à ce que les lectures successives faites à une minute d'intervalle soient constantes, ce temps étant en général de l'ordre de 3 minutes. On note la valeur de cette deuxième lecture, on ajoute encore une fois 0,1 ml de la même solution d'ADH et on relève la densité optique obtenue à cette troisième lecture. La différence entre la deuxième et la troisième lecture représente la correction pour la dilution et pour la densité optique de la solution enzymatique ; cette différence est donc ajoutée à la différence entre les lectures 2 et 1 pour obtenir une valeur corrigée de la densité optique due au NAD^+.

De la même façon, nous avons effectué la mesure du $NADH_2$ en ajoutant à 1 ml de surnageant du milieu d'extraction 0,1 ml d'une solution d'acétaldéhyde à 10 pour 100; 1,5 ml de tampon phosphate 0,1 M pH 7,0 et 0,3 ml d'eau. Après la première lecture on ajoute l'enzyme dans les mêmes conditions que pour le dosage du NAD^+ mais dans ce cas la différence entre la deuxième et troisième lecture est soustraite de la différence entre la première et la deuxième lecture ; on obtient ainsi la valeur corrigée de la densité due au $NADH_2$.

Toutes les opérations que nous venons de décrire ont été réalisées immédiatement après le sacrifice de l'animal et nous avons toujours expérimenté conjointement sur un rat témoin et sur un rat traité à l'alcool.

La teneur en nucléotide a été calculée d'après la méthode de JEDEIKIN et WEINHOUSE (237) en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du NAD^+ $6,3 \times 10^3$ mesuré par DRABKIN (123) ; nous avons appliqué dans ce but la formule:

$$\varepsilon = \frac{\text{densité optique}}{c \cdot l}$$

où c est la concentration en moles par litre.

et l la largeur de la cuve que traverse la lumière. (1 cm dans notre cas).

Dans ces conditions un changement de densité optique de 1,00 équivaut à 318 µg de NAD^+ (poids moléculaire : 663) ou bien encore, à une densité optique de 0,047 correspond 15 µg de nucléotide oxydé. Nous avons fait le même calcul pour obtenir la teneur en $NADH_2$ puisque le poids moléculaire est très voisin et que le coefficient d'extinction moléculaire est identique

pour les deux formes du nucléotide, comme l'ont montré HORECKER et KORNBERG (221).

En tenant compte de la prise d'essai du tissu et des dilutions successives, nous avons rapporté les valeurs de NAD^+ et de $NADH_2$ à 1 gramme de tissu frais, et à partir de ces résultats nous avons calculé le rapport $NAD^+ / NADH_2$ et la somme $NAD^+ + NADH_2$ dans chaque organe étudié.

B. Résultats.

Au moment du prélèvement des organes, nous avons observé que la muqueuse gastrique des rats intoxiqués à l'éthanol présente, 15 minutes après le traitement, de larges érosions hémorragiques probablement dues au pourcentage élevé d'alcool dans la solution. Quant aux valeurs de NAD^+ et $NADH_2$ des rats témoins, nous pouvons voir dans le tableau n° 34 que le foie contient plus de NAD^+ et de $NADH_2$ que l'estomac et l'intestin ; il y a $416,6 \pm 14,9$ µg de NAD^+ par g de foie ; $181,8 \pm 7,1$ µg par g dans l'estomac et $134,0 \pm 12,8$ µg par g dans l'intestin grêle ; le $NADH_2$ se trouve en quantité plus faible : $123,7 \pm 12,3$ µg par g dans le foie ; $69,2 \pm 6,4$ µg par g dans l'estomac et $53,1 \pm 2,3$ µg par g d'intestin.

Après le traitement alcoolique, nous avons observé une diminution hautement significative du NAD^+ dans le foie et l'estomac ($P<0,001$) et une augmentation très significative du $NADH_2$ également dans le foie ($P<0,01$) et dans l'estomac ($P<0,05$). Dans l'intestin par contre, nous n'avons mis en évidence aucune variation significative de la quantité de NAD^+ et de $NADH_2$ après traitement alcoolique.

En faisant le rapport $NAD^+ / NADH_2$ (tableau n° 35) nous avons noté chez les rats témoins que ce rapport est plus élevé dans le foie que dans l'estomac et dans l'intestin. Après le traitement alcoolique, le rapport est significativement diminué dans le foie ($P<0,001$) et dans l'estomac ($P<0,01$) mais non dans l'intestin.

Enfin la somme $NAD^+ + NADH_2$ pour chaque organe ne donne aucune variation significative après le traitement à l'éthanol.

C. Discussion.

Les valeurs des nucléotides NAD^+ et $NADH_2$ que nous avons observées dans le foie des rats témoins sont voisines de celles notées par GRIFFATON (182) et FAZEKAS et RENGEI (139) avec la même technique de dosage ; comme ces auteurs nous avons également remarqué une diminution du NAD^+ et une augmentation du $NADH_2$ hépatiques après un traitement alcoolique mais il faut cependant souligner d'une part que ces auteurs ont utilisé des doses

TABLEAU N° 34

Teneur en NAD^+ et $NADH_2$ 15 minutes après l'administration orale de 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel. (Résultats en µg de nucléotide par gramme de tissu frais).

		FOIE	ESTOMAC	INTESTIN
Témoins (9 rats)	NAD^+....	416,6 ± 14,9	181,8 ± 7,1	134,0 ± 12,8
	$NADH_2$...	123,7 ± 12,3	69,2 ± 6,4	53,1 ± 2,3
Traités (9 rats)	NAD^+....	342,1 ± 9,0***	140,0 ± 4,0***	117,4 ± 7,5
	$NADH_2$...	183,8 ± 12,6 **	87,7 ± 5,2 *	57,9 ± 4,8

* P<0,05

** P<0,01

*** P<0,001 (test de Student)

TABLEAU N° 35

Rapport NAD^+/ $NADH_2$ et somme des nucléotides NAD^+ et $NADH_2$
15 minutes après l'administration orale de 2g d'éthanol par Kg de poids corporel.

	Nombre d'animaux	Rapport NAD^+/ $NADH_2$			Somme NAD^+ + $NADH_2$ en µg de nucléotide par gramme de tissu frais		
		Foie	Estomac	Intestin	Foie	Estomac	Intestin
Témoins	9	3,53 ±0,26	2,82 ±0,32	2,60 ±0,32	540,3 ± 23,2	252,7 ± 12,4	187,2 ± 12,1
Traités	9	1,93*** ±0,15	1,65** ±0,12	2,20 ±0,30	525,9 ± 13,1	227,7 ± 5,2	175,3 ± 7,6

** P<0,01

*** P<0,001 (test de Student).

d'alcool plus élevées, comprises entre 3 g et 8 g par Kg de poids corporel, d'autre part qu'ils ont administré cette quantité par injection sous-cutanée ; en outre FAZEKAS et RENGEI (139) ont noté dans leurs conditions que le rapport $NAD^+ / NADH_2$ dans le foie est d'autant plus faible que la dose d'alcool administré est forte; ceci signifie donc que,plus il y a d'éthanol présent dans l'organisme, plus le NAD^+ se transforme en $NADH_2$,alors que la somme des nucléotides reste constante.

Si le résultat que nous avons observé dans le foie était donc bien connu, il n'en est pas de même pour l'estomac car à notre connaissance il n'y a eu aucun travail précédent dans ce sens. Nous avons,en effet, noté que le tissu gastrique est également le siège de modifications du taux des nucléotides en présence d'alcool puisque le rapport $NAD^+ / NADH_2$ est significativement diminué dans l'estomac de rats traités à l'éthanol par rapport à celui des animaux témoins ; comme dans le foie, la diminution du NAD^+ oxydé et l' augmentation du $NADH_2$ réduit font donc penser qu'il se déroule dans l'estomac de rats traités à l'alcool une réaction de déshydrogénation d'une substance et il y a tout lieu de croire que cette substance est l'alcool éthylique qui est oxydé en présence d'alcool déshydrogénase ; on peut également considérer que la modification du rapport représente d'une certaine manière l'activité de l'enzyme car la somme des nucléotides oxydé et réduit ne varie pas après le traitement ; ainsi est-il possible d'admettre que le nucléotide sous sa forme réduite provenant de cette réaction,pourrait être utilisé au niveau de la cellule gastrique comme une source directe ou indirecte d'ions H^+ ultérieurement sécrétés. On peut supposer de plus que le $NADH_2$ provenant du métabolisme hépatique,et bien qu'il soit utilisé en général pour une synthèse d'acide gras dans le tissu même (297), intervienne également dans l'hypersécrétion gastrique : KOTHARI et coll. (269) ont indiqué que le rôle de l'estomac pouvait être non seulement un rôle de sécrétion mais aussi un rôle d'excrétion de l'acidité et qu'ainsi cet organe participerait à la régulation acido-basique de l'organisme au même titre que les poumons et les reins. Dans ces conditions l'hypersécrétion consécutive à un traitement alcoolique pourrait être le résultat, au moins partiel, de la production de nucléotides réduits qui apparaîtraient au cours du métabolisme éthanolique. Les cellules pariétales, ne représentant pourtant qu'environ 30 pour 100 des cellules de la muqueuse ,sont en effet des cellules spécialisées dans la sécrétion acide et elles utilisent d'abord et surtout le matériel disponible au niveau gastrique lui-même puis probablement celui qui est apporté par l'irrigation sanguine.

Quant à l'absence de modification significative du rapport $NAD^+ / NADH_2$ dans l'intestin après le traitement alcoolique subi par les animaux, elle confirme en quelque sorte la spécificité locale du métabolisme de l'éthanol; il est permis de penser à la suite de cette observation que l'alcool éthylique est dégradé dans plusieurs tissus mais que l'intestin ne semble

pas être un lieu d'oxydation de l'alcool, tout au moins chez le Rat. Il faut cependant souligner le fait que la quantité d'alcool contenue dans l'intestin est plus faible que celle qui se trouve dans l'estomac après l'ingestion puisque, comme nous l'avons déjà noté, l'absorption de cette substance est importante au niveau gastrique.

En résumé, nos résultats montrent donc indirectement la possibilité d'une déshydrogénation de l'éthanol dans la muqueuse gastrique avec, comme conséquence, une augmentation du nicotinamide-adénine-dinucléotide sous forme réduite; cette augmentation pourrait être liée à une sécrétion acide et dans ces conditions il n'est pas impossible de supposer que le rapport $NAD^+ / NADH_2$ joue un rôle dans la formation d'acide chlorhydrique par la muqueuse gastrique.

II- EFFET DE L'ETHANOL SUR L'ACTIVITE DE L'ALCOOL DESHYDROGENASE DANS L'ESTOMAC, LE FOIE ET L'INTESTIN CHEZ LE RAT.

La diminution du rapport $NAD^+ / NADH_2$ dans quelques organes de l'appareil digestif après un traitement alcoolique indique seulement, comme nous venons de le souligner dans le paragraphe précédent, que l'éthanol provoque une importante déshydrogénation dans le foie et l'estomac ; cependant ce résultat peut être simplement le signe d'une oxydation de différents substrats sans que l'éthanol soit directement impliqué; en effet, il y a d'autres substances capables de modifier le rapport des nucléotides oxydé et réduit, et BARON etcoll. (31) ont montré par exemple que le pyruvate et le fructose réduisent la teneur en $NADH_2$. C'est la raison pour laquelle nous avons pensé qu'il était intéressant de suivre l'activité de l'alcool déshydrogénase dans des conditions identiques à celles que nous avons utilisées dans l'étude du rapport $NAD^+ / NADH_2$, pour vérifier si cette enzyme est effectivement responsable de l'augmentation du $NADH_2$.

Ce problème a d'ailleurs été abordé dans le foie et dans d'autres tissus par un certain nombre d'auteurs ; ainsi ALBERTINI et coll. (5) ont-ils noté que l'injection intrapéritonéale d'éthanol chez le Rat augmente transitoirement l'activité de l' ADH, 12 heures après le traitement alcoolique, tandis que FAZEKAS et RENGEI (138) ont observé, également chez le Rat, que l'activité de l' ADH est augmentée dans le foie, le muscle et les reins, deux heures après l'administration de 5 g ou 8 g d'éthanol par Kg de poids corporel. A la suite des résultats de SCHMIDT et SCHMIDT (410), KREBS (273) pense par ailleurs que l'activité de l'alcool déshydrogénase après une intoxication alcoolique est sous la dépendance du rapport $NAD^+/NADH_2$

dans les tissus où le catabolisme peut avoir lieu, notamment dans le foie.

Nous avons donc étudié l'activité alcool déshydrogénasique dans l'estomac, le foie et l'intestin, chez le Rat, après ou au cours de deux traitements alcooliques différents dont nous présenterons successivement les résultats : dans un premier temps nous avons mesuré l'activité enzymatique de l' ADH après une intoxication alcoolique aiguë, identique à celle employée dans l'expérience précédente ; dans un deuxième temps nous avons effectué les mêmes essais au cours d'une administration chronique d'alcool.

Nous exposerons donc :

1°) Les effets d'une intoxication aiguë d'éthanol sur l'activité de l'alcool déshydrogénase dans l'estomac, le foie et l'intestin chez le Rat.

2°) Les effets d'une intoxication chronique d'éthanol sur l'activité de l'alcool déshydrogénase dans ces mêmes tissus.

A. Effets d'une intoxication aiguë d'éthanol sur l'activité de l 'ADH dans l'estomac, le foie et l'intestin.

La mesure de l'activité enzymatique de l'alcool déshydrogénase après une intoxication aiguë d'alcool a pour but, comme nous l'avons mentionné précédemment, de rechercher le rôle réel du métabolisme de l'éthanol dans la diminution du rapport $NAD^+ / NADH_2$. Une étude semblable a été d'ailleurs réalisée par MISTILIS et coll. (334) qui ont conclu à une induction de l' ADH même après une administration unique d'éthanol mais les résultats de ces auteurs ne semblent pas statistiquement significatifs.

Nous avons donc soumis les animaux à un traitement alcoolique identique à celui que nous avons employé dans l'expérience précédente et nous avons sacrifié les animaux soit 15 minutes, soit 72 heures après l'intoxication. En effet dans le cas d'une modification de l'activité enzymatique au bout de 15 minutes, nous avons pensé qu'il serait intéressant de vérifier si cette modification se maintenait ou bien s'il ne s'agissait que d'une réponse rapide et transitoire.

1°- Techniques.

Nous avons utilisé 40 rats Wistar mâles d'un poids moyen de 410 g. Ces animaux au jeûne depuis 17 heures ont reçu, par intubation œsophago-gastrique, soit une solution

aqueuse d'éthanol à 50 pour 100 à raison de 2 g d'alcool par Kg de poids corporel, soit un volume équivalent d'eau ; une partie des rats traités et témoins a été sacrifiée par décapitation 15 minutes après le gavage, l'autre partie a été sacrifiée de la même façon 72 heures après. On prélève alors immédiatement le foie, l'estomac et l'intestin grêle sur lesquels on effectuera l'extraction et le dosage de l'alcool déshydrogénase dans les conditions suivantes :

- Extraction de l'alcool déshydrogénase.

Une prise aliquote de 1 g de foie, exactement pesée, est lavée dans du chlorure de sodium à 9 g par litre, à +4°C, puis placée dans 4 ml de tampon phosphate 0,015 M pH 7,4 également à +4°C. On effectue une homogénéisation à froid pendant deux minutes au moyen d'un appareil de Potter puis on centrifuge 15 minutes à 10.000 g et à + 4° C. C'est sur le surnageant ainsi obtenu que sera dosée l'enzyme.

Après le prélèvement de l'estomac et de l'intestin, ces deux organes sont retournés et lavés dans la même solution glacée de chlorure de sodium à 9 g par litre; sur la zone ventriculaire gastrique et sur une longueur arbitraire de 50 cm d'intestin, on enlève par grattage le tissu muqueux que l'on place dans 4 ml du tampon phosphate précédent ; l'homogénéisation et la centrifugation sont réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites pour le foie et les résultats sont rapportés aux protéines hydrosolubles.

- Dosage de l'alcool déshydrogénase.

Le dosage enzymatique de l' ADH a été effectué sur des prises d'essai de 0,1 ml du surnageant précédent pour le foie et sur 0,2 ml pour l'estomac et l'intestin, selon la méthode de BONNICHSEN et BRINK (65) ; le principe du dosage est de déterminer au spectrophotomètre la quantité de NAD^+ qui est réduite dans un temps déterminé, à pH 9,6 et en présence d'un excès d'alcool. Dans ce but, on place directement dans les cuves 3 ml de tampon glycocolle 0,1 M pH 9,6 ; 0,1 ml d'une solution de NAD^+ à 10 mg par ml dans ce tampon glycocolle et la prise aliquote du surnageant obtenu au cours de l'extraction. Après un mélange du contenu de la cuve, on ajoute 0,1 ml d'alcool éthylique à 95 ° et on mesure à 340 mμ l'évolution de la densité optique entre 1 minute et 3 minutes après l'addition d'alcool. Ces conditions se sont en effet révélées être les plus satisfaisantes après un certain nombre d'essais préliminaires.

Les comparaisons ont été effectuées par rapport à une préparation d'alcool-déshydrogénase FLUKA cristallisée, contenant 300 unités par mg. Un étalon de 1 μg ou 0,3 unité a été préparé et la différence de densité optique entre 3 minutes et 1 minute après avoir ajouté l'alcool, comme il est indiqué, ci- dessus est égale à 0,082 $\pm$ 0,003. La teneur en ADH de nos essais a été

calculée d'après cette valeur.

- Dosage des protéines.

Les résultats concernant l' ADH ont été rapportés à la quantité de protéines solubles des essais correspondants et plutôt que de mesurer les protéines à 280 mμ, nous avons préféré utiliser la méthode suivante (366): le dosage est basé sur le fait qu'en milieu acide, les protéines forment avec la bromosulfophtaléine (B.S.P.) un complexe qui est éliminé par centrifugation. C'est la quantité de B.S.P. n'ayant pas réagie qui est mesurée par colorimétrie à 580 mμ en milieu basique et les densités optiques obtenues sont en quelque sorte inversement proportionnelles aux quantités de protéines. La méthode comprend plusieurs étapes successives: il y a d'abord, pendant 1 heure au bain marie à 37° C, une incubation des protéines en milieu alcalin qui est réalisée avec 0,5 ml du surnageant obtenu au cours de l'extraction de l' ADH et 9,5 ml de soude normale; puis on forme le complexe B.S.P.- protéines en mélangeant énergiquement 1 ml de milieu précédent et 2,5 ml de réactif à la B.S.P. (50 mg de bromosulfophtaléine disodique, 100 ml d'acide chlorhydrique normal et 9,6 g d'acide citrique dans 250 ml d'eau distillée). Après centrifugation, on recueille enfin 0,5 ml du surnageant que l'on dilue dans 7 ml de soude décinormale et on mesure ainsi la B.S.P. qui n'est pas complexée, au spectrophotomètre à 580 mμ. Les calculs ont été effectués par rapport à une gamme étalon d'une solution de sérum albumine de bœuf à 0,5 mg par ml de soude normale.

Cette méthode fidèle et stable a l'avantage, très important dans notre cas particulier, de ne pas interférer avec la mucine qui se trouve en grande quantité dans nos préparations.

2° Résultats.

La première observation que l'on peut faire, en considérant le tableau n° 36, c'est que la muqueuse gastrique contient une forte concentration d'ADH qui est de 3 à 4 fois plus élevée que dans le foie; cependant il faut souligner que la quantité totale d'ADH hépatique est malgré tout plus importante que dans l'estomac car le foie est plus volumineux que le tissu gastrique. Quant à la muqueuse intestinale, la teneur en ADH est faible par rapport aux valeurs obtenues dans les autres parties de l'appareil digestif.

En ce qui concerne les résultats observés lorsque les animaux ont été sacrifiés 15 minutes après le traitement, on peut noter que l'activité enzymatique de l' ADH n'est pas modifiée dans le foie par une intoxication alcoolique; en effet, que les valeurs soient exprimées pour 1 mg de protéines, pour 1 g de foie frais ou pour le tissu entier, nous n'avons pas observé à ce niveau de variations statisquement significatives entre les rats témoins et les rats traités.

TABLEAU N°36

Teneur en alcool-déshydrogénase chez le Rat dans le foie, l'estomac et l'intestin grêle, 15 minutes ou 72 heures après un traitement oral de 2 g par Kg d'éthanol en solution à 50 p.100.

Intervalle traitement sacrifice		FOIE				MUQUEUSE GASTRIQUE			MUQUEUSE INTESTINALE
		Protéines totales en mg	Unités ADH par mg de protéines	Unités ADH par g de foie frais	Teneur totale d'ADH dans le foie (en unités)	Protéines totales en mg	Unités ADH par mg de protéines	Teneur totale d'ADH dans la muqueuse (en unités)	Unités ADH par mg protéines
15 minutes	Témoins (15 animaux)	707,5 ± 46,1	0,14 ±0,02	8,31 ±0,82	90,4 ± 7,2	12,33 ± 1,14	0,45 ±0,07	4,68 ±0,47	0,06 ±0,01
	Traités (10 animaux)	766,5 ± 65,2	0,10 ±0,01	6,35 ±0,51	74,8 ± 7,1	11,44 ± 0,85	0,17 ±0,02	1,96 ±0,28	0,05 ±0,01
	t	0,765(23)	1,507(23)	1,799(23)	1,479(23)	0,572(23)	3,110(23)	4,410(23)	1,118(23)
	P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P<0,01	P<0,001	N.S.
72 Heures	Témoins (7 animaux)	793,6 ±103,4	0,10 ±0,01	7,94 ±0,95	75,9 ± 8,0	10,40 ± 0,69	0,42 ±0,05	4,31 ±0,54	0,04 ±0
	Traités (7 animaux)	790,8 ± 92,4	0,10 ±0,01	7,46 ±0,64	79,1 ± 6,2	11,08 ± 0,44	0,33 ±0,02	3,70 ±0,28	0,04 ±0
	t	0,020(12)	0 (12)	0,419(12)	0,315(12)	0,839(12)	1,516(12)	1,008(12)	0 (12)
	P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

N.B. - La valeur entre parenthèses qui suit la valeur du t représente le nombre de degrés de liberté.
- Les résultats d'ADH en unités peuvent être convertis en µg d'ADH cristallisée en divisant ces valeurs par 0,3

Par contre, dans la muqueuse gastrique, nous avons remarqué que la concentration et la quantité totale d'ADH sont diminuées chez les animaux intoxiqués : nous avons noté une concentration de $0,45 \pm 0,07$ et $0,17 \pm 0,02$ unité ADH par mg de protéine respectivement chez les animaux témoin et chez les animaux traités ($P < 0,01$) ; lorsqu'on calcule la teneur totale en ADH, on note une diminution encore plus significative car le risque d'erreur est dans ce cas inférieur à 1 pour 1000 Dans la muqueuse intestinale enfin on ne note pas de variations de l'activité alcooldéshydrogénasique dans nos conditions expérimentales.

Quand les prélèvements ont été effectués 72 heures après le traitement oral, les quantités d'ADH dans le foie ne subissent aucune variation significative ; dans l'estomac, la diminution de l' ADH observée précédemment tend à s'affaiblir si bien que chez les rats traités nous avons noté $0,33 \pm 0,02$ unité par mg de protéine contre $0,42 \pm 0,05$ chez les rats témoins, et il n'y a pas ainsi de modifications statistiquement significatives entre les deux lots de rats . Quant à la teneur en cette enzyme dans la muqueuse intestinale, elle reste toujours très faible et ne subit aucun changement après l'administration alcoolique.

Nous avons observé enfin que les valeurs des protéines solubles totales du foie et de l'estomac sont stables; dans le foie nous avons trouvé de $707,5 \pm 46,1$ mg à $793,6 \pm 103,4$ mg de protéines pour l'organe entier, et dans l'estomac les quantités globales varient dans les limites étroites entre $10,40 \pm 0,69$ mg et $12,33 \pm 1,14$ mg. Les tests statistiques n'ont pas montré, dans les différents cas étudiés, de modifications significatives.

3°- Discussion.

La méthode de dosage de l' ADH par voie enzymatique repose sur la même réaction que celle du dosage du NAD^+ et du $NADH_2$; dans l'estimation de l' ADH on mesure en fait la transformation du NAD^+ en $NADH_2$ en présence d'un excès d'éthanol, alors que dans le dosage des coenzymes on utilise la même méthode mais avec l' ADH en excès. On pourrait alors penser que la technique de dosage de l'ADH n'est pas très spécifique à cause d'une interférence entre la réaction qui se fait avant le dosage et celle que l'on contrôle pour mesurer l'ADH ; en d'autres termes il se pourrait que la réaction se développe dans l'intervalle de temps qui s'écoule entre le sacrifice de l'animal et le dosage lui-même, car, au moins chez les animaux traités, il peut exister dans le tissu les éléments nécessaires à cette réaction, c'est-à-dire l'éthanol et le NAD^+. Si cette possibilité était réelle, les résultats obtenus par cette méthode seraient difficillement interprétables mais, en fait, une telle interférence ne peut pas avoir lieu pour plusieurs raisons : d'abord parce que les organes sont immédiatement lavés dans le chlorure de sodium à 9 g par litre à +4°C ce qui en principe élimine la présence d'alcool dans le milieu, ensuite parce que

l'extraction est réalisée à + 4°C , ce qui ralentit considérablement la réaction enzymatique s'il restait de l'éthanol et enfin parce que le pH du tampon d'extraction est différent du pH optimum d'action de l'enzyme. Il semble donc que dans nos conditions expérimentales les valeurs obtenues par cette méthode soient les valeurs qui existent effectivement au moment du sacrifice, ce qui nous a permis d'éviter par exemple la mesure dans le milieu de réaction soit de l'alcool disparu, soit de l'acétaldéhyde formé.

La présence d'alcool déshydrogénase dans des sites extra-hépatiques est par ailleurs un résultat déjà observé par différents auteurs, comme nous l'avons mentionné précédemment. Cependant il est important à notre avis de souligner la forte concentration de cette enzyme dans l'estomac, d'autant plus que la muqueuse duodéno-jéjunale n'en contient que de très petites quantités. Il semble donc que la répartition de l' ADH dans l'organisme n'est pas générale,ce qui amène à penser que si l'oxydation de l'éthanol peut avoir lieu ailleurs que dans le foie, elle s'effectue cependant dans des tissus bien déterminés. Il n'en reste pas moins vrai que le foie est le lieu de dégradation le plus important, car la quantité totale d'ADH y est, comme nous l'avons déjà noté , bien plus élevée que dans les autres organes.

Ainsi peut-on penser que le foie métabolise l'alcool par voie enzymatique sans que l'activité de l'enzyme elle-même soit perturbée,ce qui expliquerait que l'intoxication éthanolique aiguë ne modifie pas l' ADH hépatique,tout au moins aux périodes que nous avons étudiées ; quant à la chute du rapport NAD / $NADH_2$ observée précédemment dans les mêmes conditions, elle pourrait indiquer que dans le foie, c'est plus la quantité des coenzymes disponibles que celle de l'enzyme qui est le facteur limitant de la réaction.

Dans l'estomac,on peut aussi admettre que l'éthanol est dégradé en présence de NAD et d' ADH mais que ce métabolisme est limité puisque nous avons observé que l'activité de l'enzyme est très diminuée 15 minutes après le traitement,pour redevenir normale au cours du temps. La réduction de l'activité observée dans la première période pourrait être le résultat de la dénaturation des protéines par l'alcool mais,s'il est connu que l'ADH peut être partiellement inhibée par de fortes concentrations d'éthanol, les doses utilisées dans notre cas se situent en deçà de la dose inhibitrice,comme l'ont indiqué DICKINSON et DALZIEL (119) et KREBS (273). On peut donc rapprocher la diminution de l'ADH, de celle du rapport NAD^+ / $NADH_2$ observée précédemment dans les mêmes conditions expérimentales,et conclure à un certain ralentissement de l'activité de l'enzyme dans l'estomac au cours de son fonctionnement, ralentissement probablement dû,au moins en partie, à la diminution de la forme utilisable du coenzyme;

ainsi l'augmentation de la forme réduite du nicotinamide-adénine-dinucléotide serait-elle due directement au métabolisme de l'alcool et rendrait disponibles des ions H^+ utilisables pour l'hypersécrétion gastrique.

Cette conclusion en ce qui concerne les effets de l'éthanol sur l'activité de l'alcool déshydrogénase dans l'estomac est, de plus, renforcée par les résultats obtenus dans l'intestin où il n'existe que de faibles quantités d'enzyme qui n'ont en définitive que peu ou pas d'importance dans l'oxydation de l'alcool, d'autant plus que le rapport $NAD^+ / NADH_2$ ne varie pas.

En résumé nos résultats tendent donc à montrer les faits suivants :

1°) l'alcool n'est pas exclusivement métabolisé dans le foie.

2°) l'estomac est le siège d'une oxydation enzymatique de l'alcool.

3°) le $NADH_2$ produit au cours du métabolisme peut être utilisé dans les phénomènes sécrétoires.

B. Effets d'une administration chronique d'éthanol sur l'activité de l' ADH dans l'estomac, le foie et l'intestin.

Comme l'intoxication aiguë d'alcool entraîne des modifications de l'activité enzymatique de l'ADH dans les conditions que nous venons de décrire, nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher les effets d'une administration d'alcool à long terme sur cette activité enzymatique dans l'estomac, le foie et l'intestin. Cependant de très nombreux travaux ont été réalisés chez le Rat ou la Souris sur les variations de l'activité alcooldéshydrogénasique du foie au cours du traitement alcoolique chronique mais les résultats discordent parfois et nous avons reporté dans le tableau n° 37 les observations de quelques auteurs sur ce sujet ; on peut voir que l'activité de l' ADH hépatique est soit augmentée (98, 257, 332, 334, 409, 468) soit diminuée (176) soit identique (35, 141, 176, 209, 259, 262, 416) par rapport à des témoins, selon les auteurs, ce qui empêche d'établir une conclusion définitive d'autant plus que le mode d'administration de l'éthanol est en général à peu près semblable dans toutes ces expériences.

Si l'effet de l'alcool sur l'activité de l' ADH a fait l'objet de nombreuses recherches dans le foie, il n'en est pas de même dans les autres tissus; en effet à notre connaissance il n'existe aucun travail concernant l'évolution de l' ADH notamment dans l'estomac et l'intestin au cours d'une administration prolongée d'alcool. Cette observation, liée au fait que l'éthanol

TABLEAU N° 37

Modifications de l'activité de l'alcool déshydrogénase hépatique après intoxication alcoolique à long terme chez le Rat ou la Souris d'après quelques auteurs.

Auteurs	Années	Animal d'exp.	Méthode d'administration de l'éthanol	Durée de l'administration	Activité de l'ADH hépatique par rapport à des témoins
BARTLETT et BARNET (35)	1949	rat	10 % dans l'eau de boisson	5 mois	identique
KNOX et coll. (262)	1956	rat, souris	20 % dans l'eau de boisson	longue mais non précisée	identique
KINARD et HAY (259)	1960	rat	1 g par Kg 6 fois par semaine	3 mois	identique
von WARTBURG et coll (468)	1961	rat	10 % dans l'eau de boisson	7 mois	augmentée
FIGUEROA et KLOTZ (141)	1962	rat	3 g par Kg environ par voie i.p. 3 fois par sem.	3 ou 4 mois	identique
DAJANI et coll. (98)	1963	rat	20 % dans l'eau de boisson	40 semaines	augmentée puis identique
FIGUEROA et KLOTZ (142)	1964	rat	20 % dans l'eau de boisson + 5 ml d'une solution à 33 % par sonde gastrique 5 fois par sem.	6 semaines	identique
SCHWARZMANN (416)	1964	rat	vin rouge à 12 ° ad libitum	9 mois	identique
GREENBERGER et coll. (176)	1965	rat	20 % dans l'eau de boisson	6 semaines	identique
			20 % dans l'eau de boisson + 6 g par Kg par sonde gastrique chaque jour.	6 semaines	diminuée
MIRONE (332)	1965	souris	15 % dans l'eau de boisson	3, 5 ou 12 mois	augmentée ?
SCHLESINGER et coll. (409)	1966	souris	10 % dans l'eau de boisson	3 mois	augmentée
KHANNA et coll. (257)	1967	rat	9 à 12 g par Kg par voie intragastrique	2 mois	augmentée
MISTILIS et coll. (334)	1969	rat	2 g d'éthanol par jour et par animal	14 jours	augmentée ?
HILLBOM et PIKKARAINEN (209)	1970	rat	10 % dans l'eau de boisson	6 semaines	identique

à dose aiguë modifie l'activité enzymatique de l'estomac,a donc été une raison supplémentaire pour étudier le phénomène au cours d'un traitement à long terme. Le but de cette expérience , dans ces conditions est de rechercher si l'alcool ingéré d'une manière chronique modifie l'activité de l' ADH dans le foie, l'estomac et l'intestin. Ainsi avons-nous administré de l'éthanol à des rats pendant une longue durée et avons-nous suivi l'évolution de l' ADH dans ces trois organes d'une part pour comparer l'activité de l'enzyme dans les trois tissus, d'autre part pour préciser éventuellement l'effet de l'administration d'alcool à long terme sur la sécrétion gastrique. Parallèlement à ces mesures nous avons également contrôlé au cours de l'expérimentation la croissance des animaux ainsi que la prise de nourriture et de boisson.

1°- Techniques.

Nous avons utilisé 60 rats mâles de race Wistar dont le poids moyen au début de l'expérience était de 230 ± 5 g et qui ont été séparés en deux lots de 30 animaux chacun; ils ont reçu pour nourriture un aliment complet normal et équilibré (U.A. R.) contenant notamment 20 pour 100 de protéines, 3 pour 100 de matières grasses et apportant 360 calories pour 100 g d'aliment. Les boissons administrées ont été soit de l'eau pour les 30 rats du lot témoin soit une solution éthanolique à 10 g d'éthanol pour 100 ml d'eau pour les 30 rats du lot traité. Il faut souligner que,comme dans une des expériences précédentes, nous n'avons pas utilisé de rats sélectionnés buveurs (voir page 152). Les aliments et les boissons ont été donnés "ad libitum" et nous avons mesuré chaque jour les prises de nourriture et de liquide. Les rats ont été pesés deux fois par semaine afin de suivre leur courbe de croissance et en outre 5 animaux de chaque lot ont été placés séparément 8 jours dans des cages à métabolisme vers le 1 er, 3e et 5e mois d'expérience, pour apprécier d'une manière plus précise la consommation de nourriture, l'absorption de boisson et l'excrétion urinaire.

Après trois mois d'expérimentation nous avons mesuré sur un premier groupe de 10 rats de chacun des lots précédents l'activité de l'alcool déshydrogénase dans la muqueuse gastrique, dans le foie et dans la muqueuse intestinale ; les méthodes utilisées pour le sacrifice des animaux ainsi que pour l'extraction et le dosage de l' ADH dans ces tissus ont été identiques à celles que nous avons déjà décrites.

Au terme d'une période de six mois de traitement, nous avons réalisé les mesures suivantes sur le dernier groupe de rats témoins et traités :

- dosage de l'activité de l' ADH dans les mêmes conditions et dans les mêmes tissus que précédemment.

- estimation de la sécrétion gastrique par la technique de l'estomac isolé telle que nous l'avons déjà décrite (pages 26 à 28) et utilisée.

- analyse des lipides, de l'azote et de la teneur en eau des carcasses selon la méthode d' ABRAHAM et coll (1).

Cette étude consiste à hydrolyser pendant 48 à 72 heures et à 75°C, la "carcasse " des animaux en présence d'un volume d'acide chlorhydrique fumant égale en ml au poids en g du rat. Il faut souligner que dans le cas présent nous appelons " carcasse ", l'organisme du rat débarrassé du sang, du foie, de l'estomac et de 50 cm d'intestin grêle. L'extraction des lipides à partir de l'hydrolysat s'opère par barbotage d'éther de pétrole pendant 12 à 24 heures selon la richesse en graisse, puis l'éther de pétrole contenant les lipides est amené à un volume déterminé et le dosage se fait par pesée après évaporation d'une prise aliquote de 10 ml. L'azote total a été mesuré par la méthode de KJELDAHL sur une prise aliquote minéralisée de l'hydrolysat délipidé, et en multipliant le résultat par 6,25 nous avons obtenu la quantité totale des protides de la carcasse ; la teneur en eau, enfin, a été évaluée d'après le poids sec d'une nouvelle prise aliquote de l'hydrolysat délipidé.

Nous avons effectué cette analyse des constituants corporels des animaux d'abord pour contrôler le degré d'intoxication éventuelle de nos animaux, ensuite parce que, à notre connaissance, aucun travail similaire n'a été exécuté sur des rats traités chroniquement à l'alcool et il nous paraît intéressant de connaître l'effet de l'éthanol sur la composition des éléments fondamentaux de l'organisme dans ces condtions.

2° - Résultats.

a - Effets de l'administration d'éthanol à long terme sur la croissance des animaux.

La courbe de croissance du poids des animaux qui est rapportée sur la figure n° 21 indique que les rats traités ont une croissance inférieure aux rats témoins. En effet le poids moyen des animaux qui est de 230 g au commencement de l'expérience atteint 480 $\pm$ 12 g pour les rats témoins et 417 $\pm$ 15 g pour les rats traités ($P<0,01$) au bout de 25 semaines. Il faut noter en outre qu'à partir de la 13 e semaine, non seulement la différence du poids des rats des deux lots est significative ($P<0,001$), mais aussi que cette différence reste à peu près constante jusqu'à la fin de l'expérience et qu'elle est de l'ordre de 60 g ; en d'autres termes on peut dire d'une part

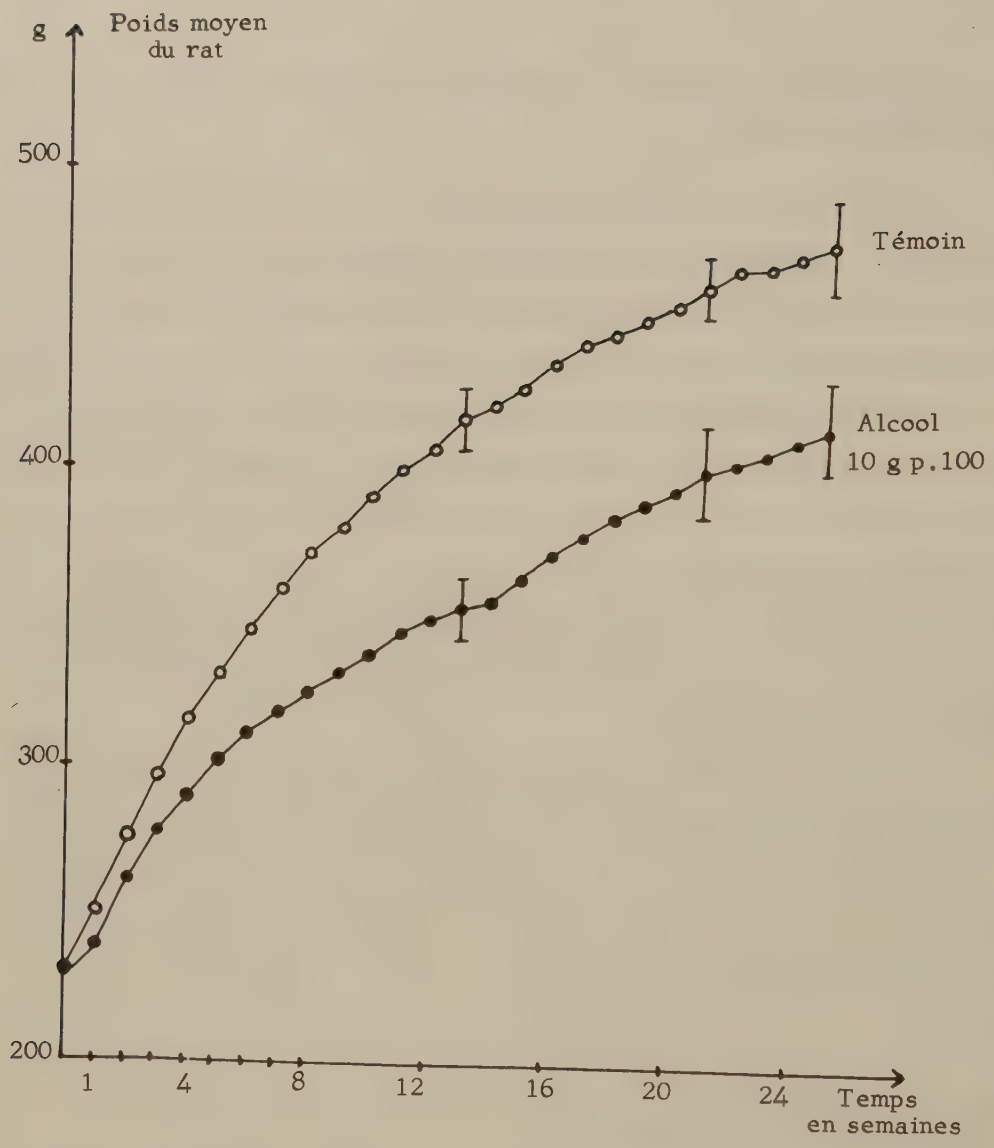


FIGURE N°21 - Evolution du poids des animaux témoins et du poids des animaux traités à l'alcool (boisson à 10 g d'éthanol pour 100 ml d'eau) pendant 25 semaines.

que pendant la première période du traitement les animaux soumis au régime alcoolique ont une croissance plus faible que les animaux témoins ; d'autre part qu'au cours de la deuxième période les deux groupes de rats ont une croissance parallèle.

Nous avons noté, enfin, que tous les animaux paraissent en bonne santé pendant la durée de l'expérience et que les rats traités ne présentent aucun signe de toxicité et ont un comportement normal.

b- Consommation alimentaire des animaux au cours de l'administration d'éthanol à long terme.

Nous avons porté dans le tableau n° 38 les quantités moyennes d'aliment et de boisson ingérés par rat et par jour, ainsi que le poids des animaux et le volume d'urine excrétée au cours du traitement alcoolique à long terme. Ces résultats concernent les mesures déterminées lorsque 5 animaux de chaque lot ont été placés individuellement dans des cages à métabolisme, les 1 er, 3e et 5e mois du régime, pendant une semaine ; comme il y a pour chaque rat des variations journalières importantes des paramètres alimentaires étudiés, nous avons calculé les moyennes des valeurs obtenues pendant la durée de ces contrôles ; ainsi avons-nous exprimé les résultats par jour et par animal en divisant le total des consommations par le nombre de jours correspondants.

Nous pouvons observer que le poids des animaux est significativement diminué chez les rats traités par rapport à celui des rats témoins à partir du 3e mois de régime, même lorsque le test statistique est effectué seulement sur cinq animaux de chaque lot. Nous avons noté par ailleurs que la quantité moyenne d'aliment ingéré par jour est stable pendant la durée de l'expérimentation dans chacun des deux lots de rats mais que les rats traités consomment significativement moins d'aliment que les rats témoins ; cette différence se retrouve avec la même signification lorsque l'on calcule l'apport calorique de la nourriture. En ce qui concerne la boisson absorbée nous avons remarqué sensiblement les mêmes résultats c'est-à-dire une stabilité de la consommation pour chaque lot au cours de l'expérience et une diminution significative de la quantité absorbée chez les rats traités au bout des 1er et 3e mois ; les valeurs observées le 5e mois ont une dispersion plus grande si bien que le test statistique n'indique pas de différence significative ; mais la quantité de solution éthanolique ingérée quotidiennement par les rats traités est approximativement de 15 ml pendant toute l'expérience ce qui représente 1,5 g d'éthanol par jour, soit une dose comprise entre 4 et 5 g par Kg de poids corporel répartie sur une période de 24 heures. Quant à l'apport calorique total qui correspond à la somme des calories de l'alimentation solide et des calories provenant le cas échéant de l'absorption d'alcool, il est statistiquement semblable chez tous les

TABLEAU N°38

Quantités moyennes d'aliment et de boisson ingérées par rat et par jour au cours du traitement alcoolique à long terme
(résultats obtenus à partir de 5 rats de chaque lot)

	Mois	Témoins	Traités	t n = 10	P <
Poids des animaux en g.	1	312,6±14,0	290,8±21,2	0,850	N.S.
	3	413,8±17,4	347,6±21,1	2,419	0,05
	5	457,7±11,5	397,8±14,3	3,283	0,05
Nourriture ingérée en g.	1	19,23±1,69	12,72±1,69	2,723	0,05
	3	18,96±0,66	12,18±1,47	4,195	0,01
	5	21,94±1,27	13,47±2,12	3,421	0,05
Apport calorique de la nourriture en cal.	1	69,23±6,07	45,79±6,20	2,721	0,05
	3	68,24±2,39	43,86±5,30	4,194	0,01
	5	78,97±4,57	48,51±7,64	3,421	0,05
Boisson absorbée en ml	1	23,65±1,60	15,05±1,29	4,181	0,01
	3	23,00±1,15	14,85±1,44	4,427	0,01
	5	22,26±1,45	16,82±2,38	1,951	N.S.
Apport calorique de l'éthanol en cal.	1		10,53±0,90		
	3		10,40±1,00		
	5		11,75±1,66		
Apport calorique total par jour et par rat en cal.	1	69,23±6,07	56,32±7,03	1,408	N.S.
	3	68,24±2,39	54,26±6,21	2,100	N.S.
	5	78,97±4,57	60,26±8,48	1,941	N.S.
Urine excrétée en ml	1	10,52±1,22	6,35±0,69	2,975	0,05
	3	12,26±1,17	6,60±0,75	4,084	0,01
	5	12,62±1,19	9,04±0,88	2,425	0,05

TABLEAU N°39

Consommation calorique et azotée des rats au cours du traitement alcoolique à long terme.

(résultats obtenus à partir de 5 rats de chaque lot)

	Mois	Témoins	Traités	t n = 10	P
alories ingérées par jour et par 00 g de poids corporel	1	21,98± 1,08	19,04±1,15	1,866	N.S.
	3	16,70±0,79	15,40±1,08	0,972	N.S.
	5	17,64±0,87	15,36±1,75	1,166	N.S.
pport calorique de l'éthanol en ourcentage par rapport à l'apport alorique total	1		18,5± 1,4		
	3		19,5± 0,9		
	5		20,1± 2,9		
zote absorbé par jour n g	1	0,61±0,05	0,41±0,05	2,781	0,02
	3	0,61±0,02	0,39±0,05	4,200	0,01
	5	0,70±0,04	0,43±0,07	3,375	0,01
d'azote absorbés par jour et par 00 g de poids corporel	1	0,20±0,01	0,14±0,01	4,255	0,01
	3	0,15±0,01	0,11±0,01	3,800	0,01
	5	0,16±0,01	0,11±0,01	2,659	0,05
apport $\frac{\text{calories totales}}{\text{Azote total}}$	1	112,6±0,2	138,7±1,9	13,380	0,001
	3	112,5±0,3	140,6±1,7	16,290	0,001
	5	112,6±0,2	142,1±6,6	4,478	0,01
apport $\frac{\text{calories de l'aliment solide}}{\text{Azote total}}$	1	112,6±0,2	112,0±0,8	0,783	N.S.
	3	112,5±0,3	113,1±0,5	1,034	N.S.
	5	112,6±0,2	113,2±0,4	1,049	N.S.

animaux, ce qui indique en d'autres termes que les rats des deux lots ingèrent au total les mêmes quantités de calories tout au long du régime. L'excrétion d'urine, enfin est de l'ordre de 11 ml chez les rats témoins et de 7 ml chez les rats traités, et cette différence est statistiquement significative aux trois périodes étudiées.

A partir de ces observations concernant la consommation des animaux, nous avon calculé un certain nombre de paramètres alimentaires que nous avons reportés dans le tableau n° 39. Nous pouvons noter que la quantité totale de calories ingérées est identique pour les deu lots si l'on ramène les valeurs journalières à 100 g de poids corporel, en tenant compte chez les animaux traités de l'apport calorique de l'éthanol qui est compris entre 18 et 20 pour 100 des calories totales. Par ailleurs, l'absorption d'azote, exprimée en g par jour est significativement diminuée chez les rats traités au cours du régime et cette diminution est également significative si la consommation quotidienne d'azote est exprimée en g par 100 g de poids corporel. Enfin, en calculant le rapport entre les calories et l'azote, on observe que ce rapport est significativement plus élevé chez les rats traités si l'on tient compte des calories de l'alcool et qu'il est égal dans les deux groupes si on ne considère que les calories apportées par l'aliment solide.

c- Effets de l'administration d'éthanol à long terme sur la composition corporelle.

Le poids vif des animaux utilisés pour ces analyses est en moyenne 488,9 ± 7,0 g pour les rats témoins contre 420,4 ± 13,4 g pour les rats traités pendant six mois et la diminution du poids des rats alcooliques est statistiquement significative avec un risque d'erreur inférieur à 1 pour 100. Le poids des carcasses (poids de l'animal privé du sang, du foie, de l'estomac et de 50 cm d'intestin grêle) représente environ 94 pour 100 du poids vif, quel que soit le traitement et la différence entre les deux lots de rats est également significative, comme nous l'avons noté dans le tableau n° 40. Sur ce même tableau nous avons reporté, en plus du poids sec délipidé de la carcasse, les teneurs totales en lipides, en protéines et en eau ainsi que ce que nous avons appelé l' "indéterminé " qui représente globalement les sels minéraux et les glucides. Nous pouvons observer que les rats traités à l'éthanol pendant six mois ont significativement moins de lipides, moins de protides et moins d'eau que les animaux témoins alors que l'indéterminé est statistiquement semblable dans les deux groupes de rats; en effet il y a 79,95 ± 7,55 g et 54,57 ± 5,50 g de lipides totaux, 92,77 ± 2,82 g et 83,78 ± 3,00 g de protides totaux et 234,87 ± 3,10 et 209,29 ± 7,74 g d'eau, respectivement chez les animaux témoins et les animaux traités avec un risque d'erreur inférieur à 1 ou 5 pour 100. Il faut noter enfin que le rapport entre l 'azote total et l'eau totale contenus dans la carcasse est égal à 0,062 ± 0,002 chez les rats témoins et 0,065

TABLEAU N°40

Résultats expérimentaux de l'analyse des carcasses chez les rats au régime alcoolique pendant 6 mois.

	Nombre d'animaux	Poids vif en g	Poids frais de la carcasse en g	ANALYSE DE LA CARCASSE				
				Poids sec délipidé en g	Lipides totaux en g	Protides totaux en g	Eau totale en g	Indéterminé en g
Témoins	9	488,9 ±7,0	460,4± 6,1	143,39± 3,14	79,95 ±7,55	92,77± 2,82	234,87±3,10	52,50± 3,26
Traités	9	420,4±13,4	393,3±12,8	129,58± 4,88	54,57 ± 5,50	83,78± 3,00	209,29±7,74	46,00± 2,75
t		4,543 (16)	4,767 (16)	2,390 (16)	2,645 (13)	2,191 (16)	3,227 (13)	1,498 (13)
P		P < 0, 001	P < 0,001	P < 0, 05	P<0, 05	P<0, 05	P<0,01	N.S.

Le nombre entre parenthèses qui suit la valeur t représente les degrés de liberté.

Sous le terme de carcasse on désigne l'animal privé du sang, du foie, de l'estomac et de 50 cm d'intestin grêle.

TABLEAU N°41

Composition centésimale de la carcasse de rats soumis au régime alcoolique pendant 6 mois.

	Nombre de rats	Résultats en g pour 100 g de carcasse fraîche			
		Lipides	Azote	Eau	Indéterminé
Témoins	9	17,31 ± 1,43	3,21 ± 0,10	52,25 ± 3,10	11,45 ± 0,72
Traités	9	13,73 ± 1,12	3,41 ± 0,04	53,71 ± 0,64	11,66 ± 0,37
t		1, 934	1, 795	1, 402	0, 243
P		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

0,001 chez les rats traités sans qu'il n'y ait de signification statistique.

Par ailleurs, en rapportant ces résultats que nous venons de présenter à 100 g de carcasse fraîche, nous pouvons remarquer dans le tableau n° 41 qu'il n'y a aucune différence selon le régime administré aux animaux; les écarts sont en général très faibles entre les deux lots de rats, sauf dans le cas des lipides, mais de toute façon on peut dire que les teneurs en lipides, en azote, en eau et en indéterminé de la carcasse sont statistiquement semblables chez les animaux traités par rapport à celles observées chez les animaux témoins.

d- Effets de l'administration d'éthanol à long terme sur l'activité alcool déshydrogénasique du foie, de l'estomac et de l'intestin.

Comme nous l'avons indiqué précédemment, nous avons mesuré l' ADH dans le foie, l'estomac et l'intestin à deux périodes du régime alcoolique, c'est-à-dire au bout de trois mois et au bout de six mois. Nous avons porté dans le tableau n° 42 les différents résultats concernant l'activité de l'enzyme et les poids frais du foie et de l'estomac; à partir de ces dernières valeurs, nous avons calculé le poids de l'organe pour 100 g de poids corporel, ce qui élimine la variation due au poids de l'animal.

TABLEAU N°42

Teneur en alcool déshydrogénase dans le foie, l'estomac et l'intestin au cours de l'administration d'éthanol à long terme chez le rat .

Période du sacrifice		FOIE						MUQUEUSE GASTRIQUE					MUQUEUSE INTESTINALE
		Poids frais du foie en g	g de foie pour 100 g de rat	Protéines totales du foie en mg	Unités ADH par mg protéines	Unités ADH par g de foie frais	ADH totale du foie en unités	Poids frais estomac en g	g d'estomac pour 100 g de rat	Protéines totales de la muqueuse en mg	Unités ADH par mg protéines muqueuse	ADH totale de la muqueuse en mg	Unités ADH par mg protéines muq. int.
3 mois	Témoins (10 rats)	11,27 ±0,86	2,81 ±0,08	903,6 ± 62,0	0,15 ±0,02	11,59 ± 1,44	126,3 ± 11,1	1,39 ±0,06	0,35 ±0,01	10,24 ± 0,59	0,77 ±0,11	7,76 ±1,20	0, 06 ±0,006
	Traités (10 rats)	9,20 ±0,92	2,57 ±0,11	666,2 ± 86,7	0,17 ±0,01	13,42 ± 1,10	106,7 ± 10,7	1,29 ±0,07	0,37 ±0,01	10,14 ± 0,61	0,60 ±0,16	6,07 ±1,68	0,07 ±0,01
	t n = 20	1,646	1,721	2,228	1,300	1,011	1,272	1,060	1,489	0,113	0,889	0,820	0,900
	P	N.S.	N.S.	<0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
6 mois	Témoins (10 rats)	10,52 ± 0,63	2,25 ±0,05	871,8 ± 65,3	0,18 ±0,01	15,33 ± 1,31	156,8 ± 11,9	1,83 ±0,07	0,39 ±0,01	11,84 ± 0,76	0,83 ±0,11	9,56 ±1,27	0,09 ±0,01
	Traités (10 rats)	9,83 ±0,51	2,40 ±0,05	810,9 ± 72,0	0,18 ±0,02	14,17 ± 1,47	132,8 ± 5,2	1,59 ±0,05	0,39 ±0,01	12,06 ± 0,69	0,90 ±0,09	11,09 ± 1,56	0,08 ±0,01
	t n = 20	0,859	2,105	0,627	0,114	0,588	1,850	2,842	0,058	0,214	0,478	0,762	0,500
	p	N.S.	=0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0,02	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

En ce qui concerne l'alcool déshydrogénase nous n'avons pas remarqué de modifications statistiquement significatives aux deux temps étudiés; en effet,quel que soit le mode d'expression des résultats, les quantités d' ADH dans le foie, la muqueuse gastrique et la muqueuse intestinale sont semblables pour les deux lots de rats, que ce soit au bout de 3 mois ou de 6 mois; dans le foie par exemple,nous avons mesuré entre 0,15 $\pm$ 0,02 et 0,18 $\pm$ 0,02 unité d' ADH par mg de protéines dans les différents cas et les faibles écarts se retrouvent si l'on rapporte ces valeurs soit à 1 g de foie frais,soit au tissu hépatique entier ; dans la muqueuse de l'estomac,la concentration d' ADN est plus élevée que dans le foie car elle est de l'ordre de 0,80 unité par mg de protéine mais la teneur globale est plus faible parce que la masse gastrique est moins importante que la masse hépatique ; dans l'intestin enfin, la quantité d' ADH est toujours faible et ne subit pas non plus de modifications significatives dans les différentes périodes du régime , quel que soit le traitement administré aux animaux.

Nous avons par ailleurs observé certaines variations du poids des organes ou de leur teneur en protéines solubles sans noter cependant des troubles systématiques apparaissant à la fois aux deux temps étudiés. Ainsi le rapport du poids du foie pour 100 g de poids corporel est-il significativement augmenté chez les rats soumis au régime alcoolique pendant six mois; les protéines du foie sont par contre diminuées chez les rats traités pendant trois mois ($P < 0,05$) mais cette modification n'apparaît plus en fin d'expérience. Quant à l'estomac, nous avons remarqué que le poids de cet organe est plus faible chez les animaux traités pendant six mois, que chez les animaux témoins ($P < 0,02$), tandis qu'il n'y a aucune différence dans le rapport du poids de l'estomac pour 100 g de poids corporel à cette période du régime.

e- Effets de l'administration d'éthanol à long terme sur la sécrétion gastrique.

L'étude de la sécrétion de l'estomac isolé des animaux soumis au régime alcoolique pendant six mois, ne nous a pas permis d'observer une quelconque modification par rapport à la sécrétion des animaux témoins. Comme il est indiqué dans le tableau n° 43, la production d'acidité libre par cette préparation est 0,55 $\pm$ 0,07 μ Eq par ml de milieu chez les rats témoins contre 0,59 $\pm$ 0,10 μ Eq par ml chez les rats traités; la quantité d'acidité totale est également identique pour les deux lots d'animaux, de même que la teneur en pepsine libérée dans nos conditions expérimentales.

TABLEAU N°43

Sécrétion de l'estomac isolé de rats soumis au régime alcoolique pendant 6 mois.

	Nombre d'animaux	Poids des animaux en g	Acidité libre µ Eq / ml	Acidité totale µ Eq / ml	Pepsine mg (t.200) / ml
Témoins	10	482,2 ± 17,6	0,55 ± 0,07	2,42 ± 0,09	23,1 ± 7,0
Traités	10	421,2 ± 21,2	0,59 ± 0,10	2,26 ± 0,16	30,2 ± 10,3
t		2, 212	0, 304	0, 811	0, 567
P		P<0, 05	N.S.	N.S.	N.S.

3° - Discussion de résultats obtenus au cours de l'administration d'alcool à long terme.

Le mode d'alimentation que nous avons utilisé dans cette expérience est différent de celui que nous avons employé précédemment lorsque nous avons recherché les modifications de l'excrétion urinaire de l'histamine; dans le cas présent,nous avons choisi une méthode plus simple d'un point de vue pratique, qui évite de préparer une nourriture spéciale pour les animaux en expérience . L'inconvénient est que les rats consomment volontairement une moindre quantité de liquide chaque jour ainsi que nous l'avons déjà mentionné mais comme la durée d'expérimentation est longue, le degré d'imprégnation alcoolique des animaux est cependant important.

a - Croissance pondérale et consommation alimentaire.

La première observation que l'on peut faire en examinant les résultats, c'est que les rats témoins pesant plus de 200 g au début de l'expérience, augmentent régulièrement de poids pendant six mois, tout en consommant la même quantité d'aliments à toutes les périodes du régime, c'est-à-dire indépendamment de leur poids; à la suite de cette remarque on peut donc ajouter que la prise de nourriture pour 100 g de poids corporel diminue au fur et à mesure de la croissance des animaux. Par ailleurs le remplacement de l'eau de boisson par une solution éthanolique à 10 g pour 100 entraîne plusieurs modifications ; d'abord nous avons noté que le retard de croissance est très net chez les rats traités dans les treize premières semaines alors que dans la

suite de l'expérience, les deux groupes d'animaux ont une croissance pratiquement parallèle, ce qui indique que l'alcool a un effet plus marqué au début du traitement ; en second lieu,il y a chez les animaux traités une diminution de la quantité d'alimentation solide ingérée par rapport à des animaux témoins, et cette consommation alimentaire est identique quel que soit le poids de l'animal enfin il faut souligner que si la différence du poids moyen entre les deux lots d'animaux est nette dès le début de l'expérience, elle ne devient statistiquement significative qu'au bout de plusieurs semaines, probablement parce que nous avons utilisé des rats presque adultes et donc à croissanc plus lente. Nous retrouvons là un résultat classique, tout au moins en ce qui concerne les rats de sexe mâle; en effet dans des conditions expérimentales semblables, DAJANI et coll. (99), KHANNA et coll. (257) et CHAUHAN et DONIACH (82) ont obtenu des valeurs similaires chez les rats mâles mais KHANNA et coll. (257) et GAILLARD (154) ont noté en outre que les rats femelles adultes traités chroniquement avec une solution alcoolique avaient une croissance sensibl ment identique à celle des rats femelles témoins; cette évolution différente des poids de rats adulte mâles et femelles soumis à un régime alcoolique pourrait peut-être s'expliquer par le fait que les animaux mâles ont une potentialité de croissance plus élevée que les animaux femelles; KHANNA et coll. (257) en effet ont observé que des rats témoins mâles de 230 g pèsent,huit semaines plus tard,120 g de plus tandis que des rats témoins femelles ne pèsent,dans les mêmes conditions,que 40 g de plus; ainsi l'éthanol aurait-il une action plus prononcée sur la croissance des animaux mâle adultes que sur celles des animaux femelles adultes.

En ce qui concerne la consommation des rats de notre expérience,nous avons noté que les animaux soumis au régime alcoolique absorbent significativement moins de calories apportées par l'aliment solide que les rats témoins, parce que la prise de nourriture est plus faible chez les premiers ; néanmoins en tenant compte des calories apportées par l'éthanol, la différence entre les deux lots n'est plus significative bien que les rats traités absorbent légèrement moins de calories que les rats témoins ; on peut donc admettre dans une certaine mesure que les deux régime sont théoriquement isocaloriques à condition que les calories provenant de l'éthanol aient la même valeur et la même utilisation que celles provenant de l'alimentation normale; en effet, malgré cette isocalorie,la croissance des animaux est significativement diminuée chez les animaux traités par rapport aux animaux témoins,ainsi que nous l'avons noté plus haut ; ceci confirme les résultats d'études précédentes comme celles de LIEBER et coll. (298) indiquant que les calories de l'alcool n'assurent pas la croissance au même titre que celles des glucides ; ainsi le gain de poids inférieu des rats traités suggère-t-il que l'alcool affecte l'utilisation des aliments ou augmente la perte calorique à moins que tout simplement les calories de l'éthanol ne soient pas utilisables pour la croissance.

A ces observations concernant la consommation calorique, il faut lier la quantité d'azote ingéré ; nous avons remarqué en effet que les animaux traités, s'ils absorbaient à peu près la même quantité globale de calories, consommaient cependant significativement moins de nourriture ; dans ces conditions, les rats traités consomment moins d'azote chaque jour et même rapportée à 100 g de poids corporel cette absorption est diminuée; en calculant d'ailleurs le rapport entre les calories totales consommées et l'azote total, on peut voir que ce rapport est significativement plus élevé chez les rats traités, tandis que si l'on ne tient compte que des calories apportées par l'aliment solide, le rapport est strictement identique dans les deux lots ; ce résultat confirme donc le fait déjà observé par RICHTER (384) que l'éthanol est utilisé comme un ersatz à la place de la nourriture tout au moins dans une certaine mesure car la quantité d'alcool métabolisé est probablement limitée (82). De plus il n'est pas exclu que l'éthanol puisse entraîner une augmentation de la perte azotée dans l'urine, comme l'ont souligné KLATSKIN et coll. (260), ce qui serait une cause supplémentaire du ralentissement de la croissance.

Enfin, la diminution de la quantité de liquide absorbé chez les rats traités reflète probablement un certain dégoût des animaux pour des solutions éthanoliques à 10 g pour 100 ; RICH et WILSON (383) ont montré que des rats boivent un plus grand volume de solutions à 4 pour 100 d'alcool qu'à 8 pour 100, bien que la quantité totale d'alcool ingéré soit identique pour les deux concentrations. On aurait donc pu administrer à nos animaux une solution dont la teneur en alcool aurait été plus faible pour qu'ils boivent un volume supérieur de liquide, mais la quantité totale d'éthanol absorbé serait restée malgré tout à peu près identique à celle obtenue présentement; les rats traités semblent réduire au minimum leur prise de boisson et ne consomment en fait que la quantité nécessaire au maintien de l'équilibre hydrique ; ce phénomène entraîne alors la diminution du volume d'urine excrétée.

En résumé on peut donc dire que la diminution de la croissance des animaux traités à l'alcool est le résultat de plusieurs phénomènes qui interfèrent et il semble apparemment que les rats traités ajustent leur consommation alimentaire davantage sur la prise de calories totales que sur celle d'azote ; cette ingestion d'éthanol entraîne alors notamment la diminution de l'apport calorique brut des aliments, la réduction de l'apport azoté, l'abaissement de la consommation de liquide et peut-être l'élévation de la perte d'azote dans l'urine, toutes choses qui ont comme conséquence de ralentir l'augmentation pondérale des animaux.

b - Composition corporelle.

L'analyse de la composition corporelle effectuée à la fin du régime indique que la différence pondérale des rats des deux groupes peut s'expliquer par des teneurs inégales en lipides en protides et en eau, si l'on tient compte des valeurs globales de ces constituants ; c'est surtout sur les lipides totaux et l'eau totale que portent les variations les plus importantes tandis que la diminution des protides totaux chez les rats traités ne représente qu'une faible proportion de la perte de poids de ces animaux. L'indéterminé,quant à lui,n'est pas modifié significativement ce qui indique que le régime alcoolique n'a pas d'effet sur l'ensemble des glucides et des minéraux de l'organisme.

En considérant la composition centésimale de la carcasse des animaux,nous n'avons noté aucune variation significative car la teneur en lipides, en azote ou en protéines et en eau pour 100 g de carcasses fraîches est identique dans les deux lots de rats. Il semble donc que la diminution pondérale des rats traités repose sur l'ensemble des constituants plus ou moins variables de l'organisme mais comme les proportions de ces constituants restent stables,on peut donc admettre que le régime éthanolique à long terme ne modifie pas l'homogénéité de la composition corporelle. La réduction de la consommation et celle du poids sont donc probablement liées entre elles mais ne modifient pas la nature même de l'organisme, si bien qu'il est peut-être excessif de dire que les animaux traités dans nos conditions sont dans un état d'intoxication prononcé.

c - Alcool déshydrogénase.

Bien que la teneur en protéines solubles du foie et de la muqueuse gastro-intestinale soit sensiblement identique chez les rats témoins dans les deux expériences où nous l'avons mesurée la quantité d' ADH observée au cours du régime paraît légèrement supérieure à celle constatée dans le travail précédent ; les résultats obtenus par les méthodes utilisées doivent donc être considérées beaucoup plus comme des valeurs relatives que comme des valeurs absolues, bien que la possibilité de variations de cette enzyme chez les rats des différents lots employés dans ces deux expériences, ne soient pas à exclure "a priori".

La comparaison de la quantité d' ADH dans le foie, la muqueuse gastrique et la muqueuse intestinale ne nous a pas permis de remarquer de différences significatives chez les rats soumis au régime alcoolique par rapport aux rats témoins et on peut donc admettre que,dans nos conditions,l'administration d'éthanol pendant trois ou six mois ne modifie pas l'activité de l'enzyme dans les tissus étudiés. Nous avons mentionné plus haut (tableau n° 37) que la possibilité d'une

variation de la quantité d'ADH dans le foie au cours d'un régime alcoolique prolongé est très controversée; il semble cependant que seules des doses élevées d'éthanol entraînent un changement, comme l'ont observé notamment GREENBERGER et coll. (176) et KHANNA et coll. (257) bien qu'il n'y ait pas accord sur le sens de l'altération.

En ce qui concerne l'évolution de l' ADH dans l'estomac,il n'y a pas à notre connaissance de travaux sur l'influence que peut avoir une administration prolongée d'éthanol,et nos résultats indiquent donc une certaine homogénéité des réactions de l'enzyme à l'imprégnation alcoolique dans les différents tissus de l'appareil digestif.

d - Sécrétion gastrique.

Nous avons observé que la consommation d'aliment pendant six mois ne provoque aucune modification de la sécrétion gastrique des rats par rapport à celle d'animaux témoins. Ce résultat peut être rapproché des observations qui ont été réalisées chez l' Homme, car LAMBLING et coll. (280) ont signalé que la responsabilité de l'alcool dans la pathologie gastrique est peu importante et qu'elle peut même être très souvent mise en doute. Ces auteurs ont observé par exemple que sur 134 cas d'alcoolisme sans atteinte hépatique clinique et biologique,la sécrétion gastrique est normale dans plus de la moitié des cas. Par contre lorsqu'une atteinte hépatique est associée, la perspective change alors profondément car la présence de gastrite est très fréquente et elle est d'autant plus importante que l'altération hépatique est profonde.

Or l'on sait que l'obtention de cirrhose hépatique chez le Rat est problèmatique et dans des expériences similaires aux nôtres, GAILLARD (154) a montré qu'il n'existe même aucune modification significative du poids sec délipidé du foie, de sa teneur en azote, en glucosamine, en hydroxyproline, pas plus qu'il n'a été observé de variations du taux des différents constituants lipidiques tels que les triglycérides, les acides gras ou le cholestérol. Il est donc permis de penser que le foie de rat est pratiquement normal après six mois de consommation alcoolique et les résultats observés dans l'étude de la sécrétion gastrique sont donc conformes aux conclusions de LAMBLING et coll. (280).

4° - Conclusions.

L'ensemble des résultats obtenus au cours ou à la fin de cette expérience peuvent appporter quelques renseignements sur les effets de l'alcool administré chroniquement.

La première observation que nous avons faite se rapporte à la consommation alimen-

taire, à la croissance pondérale et à la composition corporelle. Le retard de la croissance paraît être simplement le résultat d'une diminution quantitative des aliments car l'analyse corporelle des constituants de l'organisme ne nous révèle aucune modification fondamentale de la répartition de ces constituants. Ainsi peut-on penser que,dans nos conditions, l'alcool a uniquement un effet nutritionnel,soit parce que le rat est résistant à l'agression alcoolique, soit parce que la quantité d'alcool ingéré est trop faible, soit parce que la période de traitement n'est pas assez longue; les travaux de précédents auteurs que nous avons déjà mentionnés permettent de conclure à une résistance du Rat vis - à -vis d'un régime alcoolique équilibré par ailleurs,comme celui que nous avons utilisé. Il est donc possible d'admettre que l'éthanol,administré à des Rats pendant six mois, sous forme de boisson à 10 pour 100 n'entraîne pas d'altération majeure de l'organisme, bien que les animaux traités aient une croissance inférieure aux animaux témoins.

En second lieu nous n'avons noté aucune modification de la teneur en ADH dans le foie, l'estomac et l'intestin grêle au cours du traitement alcoolique,de telle sorte que l'éventualité d'une induction enzymatique de l'ADH, sous l'effet de l'éthanol ne paraît pas vraissemblable tout au moins dans nos conditions.

Quant à la sécrétion gastrique,elle ne subit aucune variation chez les animaux traités pendant six mois par rapport aux animaux témoins. Ce résultat ne permet donc pas de confimer ou d'infirmer une relation quelconque entre l'activité de l'alcool déshydrogénase gastrique et la production d'acide chlorhydrique par l'estomac sous l'effet de l'alcool. Cependant cette observation ne contredit pas la possibilité d'une telle relation lorsque l'alcool est administré par traitement aigu.

III- DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS GENERALES SUR LE ROLE METABOLIQUE DE L'ETHANOL DANS LA SECRETION GASTRIQUE.

L'intervention des produits du métabolisme de l'éthanol dans les phénomènes sécrétoires de l'estomac est un problème difficile à aborder d'un point de vue technique et nous avons donc été amenés à utiliser des méthodes indirectes d'investigation. En effet, il n'est pas possible,avec les moyens pratiques dont on dispose actuellement,d'identifier par exemple l'origine réelle des ions H^+ sécrétés par les cellules pariétales de la muqueuse de l'estomac. C'est la raison pour laquelle l'hypothèse de départ que nous nous sommes proposés de vérifier,ne peut pas être systématiquement retenue. Néanmoins il semble bien que l'administration aiguë d'éthanol qui

provoque par ailleurs une hypersécrétion gastrique, augmente en même temps la production du nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit ($NADH_2$) dans la muqueuse,probablement parce que l'éthanol est en partie déshydrogéné à ce niveau. En d'autres termes on peut donc penser que cet apport supplémentaire de $NADH_2$ participe à l'hyperacidité consécutive en se plaçant dans la chaîne des transporteurs d'hydrogène intervenant,comme nous l'avons déjà mentionné,dans le processus biochimique de la formation d'acidité gastrique. Cet effet de l'alcool peut donc s'ajouter soit à son action locale,soit à la libération de gastrine,observées précédemment,si bien que l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol apparaît comme le résultat de plusieurs processus d'origine différente.

Par contre, l'estomac semble peu sensible à une administration prolongée d'éthanol même à dose relativement élevée ; ce phénomène est peut-être dû au fait que l'alcool est consommé pratiquement en même temps que l'aliment et qu'il se trouve donc plus dilué dans l'estomac que lorsqu'on l'administre par sonde œsophagienne à des animaux au jeûne. De toute manière,dans nos conditions expérimentales,l'estomac ne présente aucune altération sécrétoire et n'est le siège d'aucune modification de l'oxydation de l'éthanol.

En conclusion on peut donc admettre que,chez le Rat, l'alcool éthylique agit principalement en administration aiguë lorsque l'estomac est vide. Il passe alors rapidement dans la muqueuse gastrique où la métabolisation commence déjà, avant même qu'il soit réparti d'une manière uniforme dans le compartiment aqueux corporel. Cette dégradation de l'éthanol au niveau gastrique entraîne un accroissement du $NADH_2$ en même temps qu'apparaît une diminution de l'activité de l' ADH, ce qui signifie probablement que le processus atteint vite une limite mais la restauration de l'enzyme est rapide si bien que le phénomène est prêt à se reproduire sans que n'apparaissent de profondes altérations.

En résumé nos résultats comportent les conclusions suivantes :

1°) L'estomac réagit à une administration aiguë d'alcool en produisant une augmentation de la quantité de $NADH_2$ et une diminution transitoire de l'activité de l' ADH.

2°) Le $NADH_2$ nouvellement formé peut participer à l'hyperacidité gastrique observée après un traitement alcoolique aigu.

3°) L'administration prolongée d'alcool ne modifie pratiquement pas la physiologie gastrique du rat.

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS GENERALES

I - LA SECRETION GASTRIQUE NORMALE.

II - EFFET DE L' ETHANOL SUR LA SECRETION GASTRIQUE.

III - LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION PROVOQUEE PAR L' ETHANOL.

A. Effet local de l' éthanol.

B. Rôle de l'innervation vagale.

C. Influence hormonale.

D. Rôle métabolique de l'éthanol.

IV - CONCLUSIONS.

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS GENERALES

Les différents résultats que nous avons rapportés dans les chapitres précédents ont déjà fait l'objet d'une discussion partielle au fur et à mesure de leur présentation et nous les avons souvent comparés aux observations relevées dans la littérature pour tenter d'élargir l'explication du phénomène. Dans cette dernière partie de notre travail, nous allons chercher à confronter l'ensemble de nos remarques d'une part pour préciser l'action de l'éthanol sur la sécrétion gastrique chez le Rat, d'autre part pour dégager les principales possibilités physiologiques mises en jeu dans le phénomène que nous nous sommes proposés d'étudier.

I - LA SECRETION GASTRIQUE NORMALE.

L'intrication des mécanismes qui interviennent dans la physiologie gastrique n'a pas encore permis d'élucider clairement le fonctionnement réel de l'estomac. En ce qui concerne par exemple la biosynthèse de l'acide chlorhydrique, on peut penser que l'hydrogène, prélevé sous forme ionique soit à partir de la dissociation de l'eau, soit à partir d'un substrat hydrogéné pouvant provenir du catabolisme glucidique, serait transporté par un système adéquat, puis excrété dans la lumière en même temps que les ions Cl^-.

La sécrétion de pepsine, autre élément spécifique du suc gastrique, serait quant à elle, le résultat d'une stimulation des cellules principales par l'acide sécrété comme les expériences de BABKIN (24) et d' HIRSCHOWITZ (213) tendent à le montrer; cependant il faut souligner le fait que si cette théorie justifie la plupart des résultats obtenus, elle n'indique pas la façon exacte et réelle dont est élaborée la molécule de pepsinogène et elle n'explique pas les processus qui se déroulent au cours du déplacement de cette substance à travers la membrane de la cellule principale.

A tout cela on doit associer un certain nombre d'observations très diverses dont on ne connaît pas toujours la signification vis-à-vis du mécanisme de la sécrétion : d'abord la

surface de la muqueuse présente par rapport au parenchyme une différence de potentiel négative, indépendante de la localisation des cellules pariétales ; ensuite l'innervation vagale contrôle une phase de la sécrétion parce qu'elle est la voie de conduction de toutes les stimulations et de toutes les inhibitions passant par les centres hypothalamiques ou situés dans le tronc cérébral; enfin le problème du médiateur ultime de la sécrétion gastrique est encore très discuté.

Si on connaît donc la plupart des éléments qui participent d'une manière ou d'une autre aux processus sécrétoires de l'estomac, on ignore en général d'une part la valeur respective de chacun de ces facteurs, d'autre part la période exacte où ils interviennent, probablement parce que peu d'auteurs ont étudié systématiquement et simultanément les différents paramètres de cette sécrétion.

II - EFFET DE L'ETHANOL SUR LA SECRETION GASTRIQUE.

Il est classiquement admis que l'alcool éthylique provoque une hypersécrétion gastrique et nous avons déjà mentionné que CHITTENDEN et coll. (86), dès 1898, ont mis en évidence d'une manière très nette l'augmentation quantitative de l'acide chlorhydrique et du pouvoir protéolytique de l'estomac de Chien stimulé par l'éthanol. Il est à remarquer que ces auteurs ont également observé que la voie d'administration de l'alcool n'influence pas les caractères de cet effet sécrétoire car, même lorsque l'éthanol était placé dans l'intestin, on observait malgré tout une hypersécrétion gastrique. De nombreux travaux ont été par la suite réalisés, d'abord pour vérifier et confirmer ces premiers résultats puis pour explorer les différentes conditions dans lesquelles s'établit l'action de l'alcool à ce niveau. Ce problème, en effet, a toujours soulevé un grand intérêt d'une part dans une optique de recherche fondamentale, d'autre part pour les applications qu'il pouvait avoir en clinique humaine car le rôle de l'éthanol et des boissons alcooliques dans la pathogénie gastrique était discuté. C'est d'ailleurs cet aspect physiopathologique qui a été pour nous une des raisons de nous intéresser au mécanisme de cette hypersécrétion de l'estomac induite par l'alcool.

Cependant avant d'étudier le mécanisme du phénomène, nous avons été amenés à délimiter les conditions expérimentales dans lesquelles l'estomac réagit à un traitement alcoolique; cette partie de notre travail avait donc pour objet non pas d'obtenir des résultats nouveaux puisque cette action est connue, mais de contrôler des techniques pouvant nous permettre par la suite de rechercher le fonctionnement sécrétoire de l'estomac lorsque le Rat est soumis à une administration d'éthanol. Les principaux résultats que nous avons ainsi obtenus par la méthode de la perfusion gastrique concordent avec ceux qui ont déjà été observés chez le Chien ou l'Homme par un grand

nombre d'auteurs ; par contre les valeurs remarquées sur le rat au pylore ligaturé nous ont montré une discordance majeure que nous avons expliquée par des modifications de l'équilibre hydrique corporel ; ce résultat montre l'importance de la méthode qui doit être choisie en fonction de la possibilité des réactions générales de l'organisme.

Quoiqu'il en soit l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol semble donc être la conséquence d'une variation des différents facteurs intervenant au cours de la sécrétion normale de l'estomac ; pour tenter de vérifier cette hypothèse nous avons ainsi étudié les variations de quelques uns de ces facteurs sous l'influence de l'alcool éthylique.

III - LE MECANISME DE L'HYPERSECRETION ALCOOLIQUE.

Dans notre travail,nous avons été conduitspour des raisons méthodologiques à considérer séparément les différentes étapes de la sécrétion gastrique,si bien que la comparaison des résultats obtenus dans ces conditions,doit précéder la présentation d'une vue synoptique du mécanisme considéré.

A. Effet local de l'éthanol.

Les mesures effectuées à ce sujet nous ont fait observer que l'action locale de l'éthanol est un phénomène complexe ; en effet la présence d'alcool dans l'estomac entraîne toute une série de conséquences dont la modification de la sécrétion paraît simplement un paramètre ; par exemple GEALLet coll. (161) ont trouvé que l'administration de boisson à hauteconcentration d'alcool entraîne chez l' Homme une forte réduction de la différence de potentiel gastrique au même titre que l'aspirine ;ces auteurs pensent d'ailleurs que la stabilité de la différence de potentiel gastrique est un test très précis de l'intégrité de la muqueuse. DAVENPORT (104) avait aussi montré précédemment que l'alcool disloque la barrière muqueuse de l'estomac de Chien empêchant ainsi la diffusion des ions,mais les mesures de la différence de potentiel n'ont pas été effectuées simultanément. En plus de cette action, l'éthanol modifie la perméabilité cellulaire, le transport actif ou l'état physiologique de la cellule ce qui indique dans une certaine mesure que cette substance peut agir localement sur le tissu gastrique. Cependant, bien que nous n'ayons pas de résultats personnels sur la morphologie histologique de la muqueuse, les modifications sécrétoires que nous avons obtenues au cours de notre expérimentation, laissent penser que la quantité d'alcool effectivement présente dans l'estomac conditionne son action sur la cellule; de plus cet aspect a été confirmé par quelques auteurs précédents (166) et nous avons pu observer qu'une faible dose,par

exemple,augmente la sécrétion gastrique tandis qu'une forte dose détruit plus ou moins profondémen la muqueuse,entraînant un hypofonctionnement gastrique dû en partie à la dénaturation protéique.

En d'autres termes,il semblerait que l'irritation due aux propriétés physicochimique particulières de l'éthanol, ainsi que l'ont montré BERNARD et coll. (49), exerce une action local de faible proportion au cours de l'hypersécrétion.

Cet effet irritant se manifeste d'ailleurs dans les résultats obtenus avec les estomac isolés,par une diminution sécrétoire significative à partir de concentrations de l'ordre de 1 M. Par contre une faible quantité d'alcool modifie peu ou augmente légèrement l'acidité gastrique et on peut admettre que l'action locale de l'éthanol intervient faiblement dans la réponse sécrétrice de l'estomac stimulé par l'alcool éthylique.

B. Rôle de l'innervation vagale.

Si la vagotomie entraîne classiquement chez le Rat une diminution de la sécrétion acide basale, nos résultats ont mis en évidence que l'action typique de l'éthanol sur cette sécrétion n'est pas qualitativement modifiée dans ces conditions expérimentales ; on peut donc admettre que l'intégrité des structures nerveuses extrinsèques n'est pas indispensable à la réponse gastrique consécutive au traitement alcoolique chez le Rat,et nous retrouvons là les résultats de GRAY et BACHRACH (174), WOODWARD et coll. (483), IRVINE et coll. (225) et ELWIN (134, 135) qui ont observé le même phénomène chez le Chien ou chez l' Homme . On peut penser également que l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'alcool n'est pas influencée par les zones nerveuses supérieures et qu'en conséquence, elle n'est pas obligatoirement sous la dépendance des actions centrales de l'alcool,qui peut agir par exemple sur la glycémie ou sur la pression artérielle,et dont les récepteurs nerveux sont situés au niveau de l'hypothalamus. Ces considérations amènent donc à penser que l'effet sécrétagogue de l'éthanol est un effet spécifique et il faut donc rechercher dans le mécanisme physiologique de la sécrétion gastrique normale, un ou plusieurs facteurs susceptibles d'être modifiés, entraînant alors les changements observés par ailleurs. En définitive,il apparaît donc que l'éthanol peut agir sur la sécrétion gastrique en absence de toute innervation parasympathique extrinsèque, bien que ce résultat n'implique pas obligatoirement une non-intervention du nerf vague chez l'animal normal, lorsque l'estomac est soumis à une stimulation qui atteint l'ensemble de l'organisme.

C. Influence hormonale.

La recherche de l'influence d'une substance hormonale dans la physiologie de la sécrétion gastrique a fait l'objet depuis longtemps de nombreux travaux plus ou moins contradictoire

et les différents arguments de chaque théorie ont été déjà présentés sans aboutir à une solution. Cependant, comme la sécrétion gastrique normale se trouve au moins en partie sous contrôle hormonal, il est probable que ce contrôle s'exerce également au cours de diverses stimulations.

Il apparaît à la suite de nos résultats,complétant d'ailleurs des travaux précédents, que seule la gastrine indépendamment de tout autre facteur humoral ou hormonal peut intervenir dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol; en effet nous n'avons pratiquement observé de variations de l'histamine ni dans le tissu gastrique ni dans l'urine,au cours du traitement alcoolique aigu,tandis que dans les mêmes conditions,nous avons noté une augmentation de la quantité de gastrine dans le tissu stomacal et probablement aussi dans l'urine. Ainsi peut-on supposer un déroulement physiologique de l'effet sécrétagogue de l'alcool qui commencerait par une mobilisation ou une néo-synthèse de gastrine dans le tissu; cette gastrine pourrait en effet avoir plusieurs origines que nous n'avons pas établies et l'augmentation tissulaire observée pourrait provenir soit d'une concentration de l'hormone circulante dans le sang,soit d'une activation de la gastrine préexistante dans la muqueuse,soit enfin de la formation accrue de gastrine par les cellules de l'antre en présence d'éthanol. De toute façon l'élévation de la gastrine, si petite soit-elle, entraîne une augmentation sécrétoire car elle stimule par voie sanguine les cellules pariétales de l'estomac; dans un deuxième temps,on peut supposer que la gastrine circulante est métabolisée au niveau du foie mais qu'une certaine quantité est éliminée dans l'urine sous une forme peut-être dégradée mais toujours physiologiquement active,puisque nous avons noté un P.S.U. positif. Cependant en ce qui concerne la quantité de l'hormone mise en jeu dans le phénomène, nous avons calculé que chaque estomac de rat contenait approximativement entre 0,5 et 0,7 µg de gastrine après un traitement alcoolique alors qu'aucune trace de cette gastrine n'a pu être décelée,avec nos méthodes d'extraction et de dosage, dans la muqueuse gastrique de rats témoins. Pour tenter de déterminer l'importance du mécanisme gastrinique dans l'hypersécrétion alcoolique,on peut comparer la réponse sécrétoire consécutive d'une part à un traitement éthanolique,d'autre part à une administration de gastrine, les deux injections étant faites dans les mêmes conditions et en utilisant des préparations expérimentales identiques ; compte tenu de ces données,il apparaît que la gastrine interviendrait dans le processus étudié pour justifier environ 60 à 70 pour 100 de l'hypersécrétion observée. Cette conclusion montre donc que si l'influence hormonale est prédominante dans la réponse gastrique, elle n'est quand même pas unique et pour cette raison il faut admettre l'influence possible d'autres facteurs de type local,nerveux ou métabolique.

D. Rôle du métabolisme de l'éthanol.

Nous avons pu observer que l'estomac de Rat est le siège d'un métabolisme important

de l'alcool éthylique par la voie utilisant l'alcool déshydrogénase ; bien que l'oxydation apparaisse quantitativement limitée dans le temps à cause d'un certain ralentissement de l'activité de l'enzyme, la dégradation amène une chute du rapport NAD/ $NADH_2$ dans la muqueuse pour une même quantité globale des coenzymes; cela signifie que la conséquence directe du catabolisme de l'éthanol consiste en une augmentation sélective de la forme réduite au détriment de la forme oxydée du nicotinamide-adénine-dinucléotide ; cette quantité accrue de $NADH_2$ dans la muqueuse gastrique peut alors être utilisée par les cellules pariétales spécialisées dans l'élimination des ions H^+ sous forme de sécrétion ; ainsi cet aspect de l'hyperacidité consécutive au traitement alcoolique pourrait être considéré d'un point de vue toxicologique comme une détoxication indirecte de l'éthanol puisque, par cette voie, l'organisme excrète des éléments susceptibles de perturber le métabolisme général ultérieur.

Si cette hypothèse peut être acceptée dans le cas du traitement aigu, il n'en est pas de même au cours d'une administration prolongée d'éthanol; en effet au cours d'un traitement chronique avec une solution diluée d'alcool pendant six mois, nous n'avons décelé aucune variation enzymatique notable dans la muqueuse gastrique ; les différents résultats que nous avons obtenus dans cette partie de notre travail semblent donc indiquer que l'éthanol agit sur la sécrétion gastrique d'une manière fugace par une voie métabolique, et qu'une certaine quantité d'alcool présent dans l'estomac peut être rapidement oxydée sans qu'il n'apparaisse d'accoutumance ou d'adaptation de type enzymatique tout au moins à ce niveau. En conclusion, on peut donc admettre que la participation des produits du métabolisme de l'éthanol dans les phénomènes sécrétoires de l'estomac, est très probable mais de toute façon très passagère, et qu'elle n'intervient certainement que dans une faible proportion au cours de l'hypersécrétion provoquée par l'éthanol.

IV - CONCLUSIONS.

L'ensemble des observations que nous avons pu réaliser au moyen de plusieurs techniques chez le Rat, laisse penser que l'hypersécrétion gastrique induite par l'éthanol est un phénomène complexe dont le mécanisme fait intervenir quelques facteurs à des degrés divers ; cette conclusion est d'ailleurs conforme aux résultats de HIRSCHOWITZ et coll. (210), WOODWARD et coll. (483) et DAVES et coll. (107), obtenus à partir d'espèces animales différentes, et il nous a paru intéressant de compléter notre travail par l'estimation du rôle respectif de l'un ou de l'autre de ces facteurs, au moyen des observations que nous avons pu recueillir. En effet, nous avons précédemment chiffré l'importance du mécanisme gastrinique qui représenterait à lui seul environ 60 à 70 pour 100 de l'hypersécrétion gastrique provoquée par

l'éthanol et il est donc clair d'une part que la gastrine intervient en grande partie dans le phénomène, d'autre part que ce n'en est pas le seul élément; d'ailleurs au cours de notre étude comparative concernant les effets de l'histamine, de la gastrine et de l'éthanol sur la sécrétion acido-peptique de la cavité gastrique perfusée, nous avons noté qu'il n'y avait pas d'analogies très nettes entre les pentes des droites de corrélation acide / pepsine, telles que nous les avons calculées (tableau n° 20). L'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol n'est donc pas sous la seule dépendance de la gastrine, sinon ces droites de corrélation seraient semblables, et il reste à rechercher l'origine de la partie du phénomène qui n'est pas sous contrôle gastrinique.

Il semble que, chez le Rat, l'action directe de l'éthanol sur la cellule pariétale joue un rôle mineur et que l'intégrité de l'innervation parasympathique n'est pas indispensable pour que se manifeste l'hypersécrétion; dans ces conditions, on peut imaginer que le phénomène étudié est peu touché par des actions à ce niveau, bien que nous ayons pu noter cependant que la muqueuse gastrique, mise en présence de faibles doses d'éthanol, montrait une légère hyperacidité par rapport à une expérience témoin; ainsi le pourcentage de l'intervention de l'effet local et de l'innervation vagale pourrait-il se situer approximativement autour de 10 à 20 pour 100, tout au moins lorsque la concentration d'éthanol qui baigne les cellules sécrétrices de la muqueuse est faible ; ces circonstances peuvent se présenter, soit lorsque l'alcool est administré par voie veineuse puisqu'il se répartit dans tout le compartiment aqueux de l'organisme et par conséquent dans le suc gastrique, soit lorsque l'alcool est ingéré par voie buccale sous la forme de solutions très diluées.

Enfin la modification du rapport NAD / $NADH_2$ que nous avons observée dans la muqueuse gastrique est également susceptible d'expliquer une certaine proportion de l'hypersécrétion provoquée par l'éthanol. En effet, la quantité de $NADH_2$ qui apparait en supplément après l'administration d'alcool est approximativement de 20 µg tandis que la diminution de NAD après le même traitement est d'environ 40 µg. Cela peut représenter, dans ces conditions, à peu près 10 pour 100 de l'hyperacidité alcoolique ; cette activité enzymatique ne joue donc pas un rôle très important dans ce cas précis mais il faut souligner qu'elle s'ajoute aux processus métaboliques intervenant normalement dans la physiologie gastrique ; d'ailleurs DAVENPORT et coll. (100) ont cherché à établir une corrélation entre la glycolyse et la sécrétion, mais leurs résultats n'ont pas permis de tirer des conclusions très nettes, probablement à cause de la complexité du mécanisme sécrétoire ; cependant KREBS (273) de son côté, admet que la quantité notable d'alcool déshydrogénase présente dans l'estomac humain est peut-être un signe du rôle de cette enzyme

dans les effets physiopathologiques de l'alcool éthylique au niveau gastrique. Ainsi l'intervention d'un mécanisme métabolique peut-elle être supposée dans les phénomènes de stimulation ou d'inhibition sécrétoires sans qu'il ait été clairement prouvée la présence de telles réactions au cours des phénomènes physiologiques normaux produisant les ions H^+.

Pour schématiser ces différentes observations que nous venons de faire à partir de nos résultats, nous avons présenté sommairement sur la figure n° 22 les différentes voies d'action de l'éthanol sur la cellule pariétale et les conséquences qui en découlent.

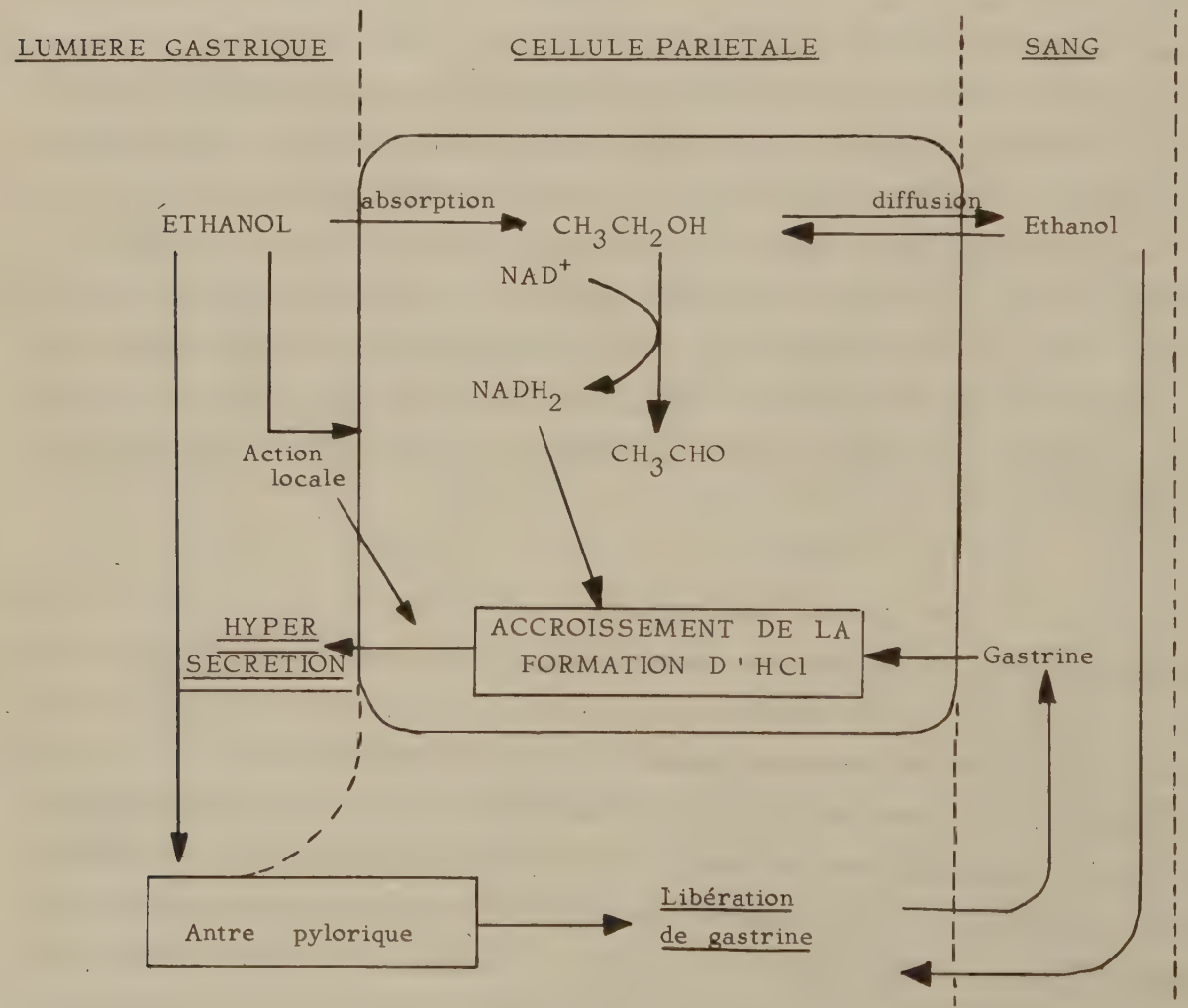


FIGURE N°22 - Schéma des différentes actions de l'éthanol sur la cellule pariétale.

En ce qui concerne l'augmentation de la sécrétion de pepsine après un traitement alcoolique, on peut penser d'une part que l'éthanol agit localement sur la cellule principale de la même manière qu'elle le fait sur la cellule pariétale, d'autre part que la gastrine mise en jeu par l'éthanol augmente la sécrétion de pepsine dans des conditions analogues à ce qui se passe au cours de la stimulation de la sécrétion acide.

Enfin à côté de ces différents facteurs qui interviennent en proportions variables dans le mécanisme de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'alcool, il n'est pas exclu "a priori" que d'autres éléments encore inconnus puissent contribuer au déroulement du phénomène étudié ; cependant étant donné que l'effet local de l'éthanol, la participation de la gastrine et l'augmentation métabolique du $NADH_2$ peuvent expliquer la plus grande partie de l'hypersécrétion, il est difficile d'imaginer la présence d'autres composants capables de prendre part d'une manière notable à l'effet considéré.

En bref, une fois étudié les caractères de l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'éthanol, les résultats obtenus dans notre travail nous ont permis de montrer ou de préciser les points suivants :

1°-Les compartiments corporels sont fortement perturbés par un traitement alcoolique.

2°- L'éthanol agit localement sur la cellule sécrétrice, soit pour stimuler la sécrétion à faible concentration, soit pour l'inhiber à forte concentration.

3°- L'éthanol peut avoir une action irritante sur la cellule gastrique.

4°- L'innervation parasympathique extrinsèque de l'estomac n'est pas nécessaire à l'augmentation de la sécrétion acido-peptique due à l'éthanol.

5°- L'intervention de la gastrine est le facteur prédominant dans l'hypersécrétion gastrique consécutive au traitement alcoolique.

6°- L'histamine n'intervient pas chez le Rat au cours de l'augmentation sécrétoire de l'estomac provoquée par l'alcool.

7°- L'éthanol est métabolisé dans la muqueuse gastrique en présence d'alcool - déshydrogénase, et l'augmentation de $NADH_2$ qui en résulte peut participer à l'hypersécrétion.

8°- L'éthanol n'est pratiquement pas métabolisé dans l'intestin grêle.

9°- Le traitement alcoolique chronique ne modifie pas chez le Rat la fonction sécrétoire de l'estomac, bien que l'équilibre alimentaire soit perturbé.

RESUME

L'augmentation de la sécrétion gastrique par l'alcool éthylique, phénomène connu depuis fort longtemps, a retenu l'attention de nombreux auteurs en raison de son intérêt physiologique, toxicologique et clinique. Il est à remarquer cependant que l'effet de l'alcool en tant que nutriment sur cette sécrétion gastrique n'a été que peu étudié.

La sécrétion gastrique est à la fois sous contrôle nerveux et sous contrôle hormonal. Le nerf vague envoie des fibres sécrétoires aux cellules mais les nerfs intrinsèques de la paroi gastrique peuvent réagir à une grande variété de stimuli, indépendamment du système nerveux central : le contrôle hormonal de la sécrétion gastrique s'exerce probablement par la gastrine libérée au niveau de l'antre et déchargée dans le sang qui la transporte jusqu'aux cellules pariétales.

Au cours des phénomènes de la digestion, les aliments provoquent un accroissement de la sécrétion gastrique et cette sécrétion se fait schématiquement en trois étapes que l'on nomme la phase céphalique, la phase gastrique et la phase intestinale. La phase céphalique implique deux mécanismes: une action vagale directe sur les cellules sécrétrices et une action indirecte en favorisant la libération de gastrine à partir de la muqueuse antrale ; la phase gastrique est en rapport avec la distension qui donne les mêmes effets que la phase précédente, c'est à dire la stimulation directe des cellules et la décharge gastrinique ; la phase intestinale est déterminée par l'arrivée des aliments dans le duodénum et par la distension consécutive.

L'effet hypersécréteur de l'éthanol pourrait s'inclure raisonnablement dans la phase gastrique et dans la phase intestinale ; c'est d'ailleurs à ce niveau qu'interviennent les aliments, comme la viande et les produits de dégradation des protéines, qui augmentent la sécrétion gastrique. On peut donc rapprocher dans une certaine mesure l'action de l'éthanol et l'effet de certains types d'aliments qui interviennent sur la sécrétion gastrique en libérant la gastrine. C'est une des raisons pour lesquelles nous nous sommes intéressés à ce phénomène de l'hypersécrétion gastrique induite par l'éthanol et si le rôle de la gastrine est avancé plus que prouvé dans le mécanisme physiologique, cela n'exclut pas la possibilité pour l'éthanol d'agir directement par ses propriétés sur

la sécrétion gastrique.

L'alcool éthylique,en effet, peut agir au niveau de l'estomac par ses propriétés physiques (pouvoir hygroscopique et déshydratant) et par ses propriétés pharmacologiques (stimulation directe et métabolisme) ; c'est pourquoi nous nous sommes proposés d'étudier chez le Rat, les différentes voies par lesquelles l'éthanol pourrait provoquer une augmentation de la sécrétion gastrique.

Notre travail peut être divisé de la manière suivante :

- 1ère partie : les méthodes d'étude de la sécrétion gastrique chez le Rat.
- 2ème partie : l'hypersécrétion gastrique induite par l'éthanol.
- 3ème partie : le mécanisme de cette hypersécrétion.

  A- Effet local de l'alcool et rôle du nerf vague.

  B- Rôle des médiateurs : histamine et gastrine.

  C- Rôle du métabolisme de l'éthanol.

I- LES METHODES D'ETUDE DE LA SECRETION GASTRIQUE CHEZ LE RAT.

1- Après de nombreux essais préliminaires, nous avons choisi deux techniques " in vivo " (estomac de SHAY et estomac de GHOSH) et une technique " in vitro " (estomac isolé) pour analyser les sécrétions d'acide et de pepsine au cours de nos expériences.

2- Une étude critique de ces différentes méthodes nous a permis d'en distinguer les avantages et les inconvénients respectifs, et d'en apprécier les limites.

II - L'HYPERSECRETION GASTRIQUE INDUITE PAR L'ETHANOL.

Le premier problème qui s'est posé a été de délimiter cet effet hypersécréteur de l'alcool ; de nombreux travaux, parfois très anciens, ont montré que l'éthanol augmentait la sécrétion gastrique chez le Chien, le Rat ou l'Homme par des voies de traitement diverses (" per os " ou intraveineux) mais avant de commencer l'étude du mécanisme de ce phénomène, il nous a paru utile de déterminer les conditions précises dans lesquelles l'éthanol agit sur la sécrétion gastrique.

1- Nous avons observé que l'alcool, en solution diluée, injecté par voie veineuse à des rats au pylore lié, n'a aucun effet hypersécréteur probablement parce qu'il provoque,dans ces conditions, un déséquilibre hydrique entre l'estomac et les compartiments corporels.

2- Lorsque la méthode de perfusion gastrique a été utilisée, l'éthanol entraîne rapidement la classique augmentation d'acide et de pepsine.

3- Les résultats obtenus avec ces deux techniques peuvent donc expliquer des divergences dans les observations de certains auteurs et il semble que le mode d'administration, la dilution de l'alcool et la technique utilisée sont des éléments qui font varier les effets physiopathologiques de cette substance.

III - LE MECANISME.

Une fois établies les conditions d'action de l'alcool au niveau de l'estomac, nous avons pu faire quelques hypothèses sur le mécanisme de cette action. En bref, il est logique de penser que l'alcool pourrait agir de trois façons : par un effet local, par une décharge d'histamine ou de gastrine, par son métabolisme propre,car il est probable que l'action de l'alcool ne soit pas due à un seul phénomène mais soit plutôt la résultante d'un ensemble de réactions variées ou interviennent plusieurs facteurs.

A- Effet local de l'alcool - Rôle du nerf vague.

On peut penser d'abord que l'alcool ingéré peut agir directement sur la muqueuse, et quelques auteurs ont montré des modifications histologiques importantes après un traitement alcoolique : couche épithéliale superficielle localement desquamée, dilatation des capillaires gorgés de sang et parfois rompus, œdème du tissu conjonctif inter-glandulaire, etc... Il a été noté, de plus, que la quantité d'alcool et surtout sa concentration règlent l'importance de ces lésions.

Pour aborder l'effet local de l'alcool sur la sécrétion, nous avons eu recours à une méthode d'organes isolés où l'estomac d'un rat est rapidement prélevé et placé pendant deux heures à 37° C dans un milieu d'incubation oxygéné.

1- Nous avons pu observer que la présence d'une faible quantité d'éthanol (100 mM) dans le milieu d'incubation provoque une légère hyperacidité, alors qu'un traitement préalable chez le Rat "in vivo" n'entraîne pas de modifications ultérieures de la sécrétion. Ces résultats laissent penser que le nerf vague n'est pas indispensable à une sécrétion basale liminaire et qu'il ne contrôle pas l'hypersécrétion alcoolique.

2- Après ces premières observations " in vitro ", nous avons étudié l'effet de la vagotomie sur l'animal entier et nous avons utilisé la méthode de perfusion de la cavité gastrique de rats vagotomisés chirurgicalement ; nous avons noté, dans ces conditions, une sécrétion acide basale très faible mais l'éthanol provoque une hyperacidité et ces résultats confirment donc ceux obtenus

avec l'estomac isolé : la vagotomie diminue l'acidité gastrique de base sans empêcher l'alcool d'augmenter cette sécrétion. Quant à l'effet de la vagotomie sur l'activité protéolytique, nous n'avons remarqué aucune modification entre les rats témoins et les rats vagotomisés, avant ou après traitement alcoolique.

3- On peut donc admettre en définitive, qu'au niveau gastrique, l'alcool agit, au moins en partie, par un effet local c'est à dire directement sur la cellule pariétale, et que l'intégrité du système parasympathique extrinsèque ne semble pas indispensable à l'hypersécrétion.

B- Rôle des médiateurs : histamine et gastrine.

Depuis longtemps, il a été reconnu qu'il existait des médiateurs chimiques de nature hormonale pour la sécrétion gastrique. Les substances présumées responsables d'une telle action sont l'histamine et la gastrine que l'on a cru associées pendant longtemps ; ce n'est que depuis les travaux de GREGORY qui a isolé la gastrine, que l'on a séparé l'action de ces deux corps et mis en doute le rôle hormonal de l'histamine.

1- Pour étudier l'existence éventuelle d'un phénomène hormonal dans l'hypersécrétion alcoolique, nous avons d'abord fait une étude comparative entre l'histamine, la gastrine et l'éthanol mais, que ce soit par la méthode de la perfusion ou par la méthode de l'estomac isolé, nous n'avons pa pu distinguer d'analogie statistiquement significative entre ces substances.

2- En ce qui concerne l'histamine qui a été dosée par fluorescence, nous n'avons observé de modification de cette amine ni dans le tissu ni dans le suc gastrique, après une intoxication alcoolique aiguë.

3- Nous n'avons pas trouvé de modification significative de l'histaminurie après un traitement aigu mais, au contraire, nous avons observé une augmentation significative de l'histamine urinaire au cours d'une intoxication alcoolique à long terme ; en fait, il est possible que cette histaminurie ne soit pas le reflet d'une modification de l'histamine tissulaire mais plutôt le résultat d'une diminution de l'activité histaminasique du foie.

4- En bref nous pouvons dire qu'il ne semble pas que l'histamine joue un rôle direct dans l'hypersécrétion gastrique provoquée par l'alcool, contrairement à ce qui avait été supposé par différents auteurs.

5- Pour rechercher un rôle éventuel de la gastrine dans ce phénomène physiopathologique, nous avons suivi le même processus que précédemment et nous avons noté la présence de gastrine dans l'estomac de rats traités, ainsi qu'un pouvoir gastrosécrétagogue urinaire (P.S.U.)

positif chez ces animaux.

6- La gastrine semble donc en cause dans le phénomène et nous avons évalué que ce mécanisme était responsable d'environ 60 à 70 pour 100 de l'hypersécrétion gastrique.

C- Effet du métabolisme de l'éthanol.

Indépendamment ou concurremment des effets directs ou hormonaux de l'alcool, il est possible que l'hypersécrétion gastrique soit liée à la dégradation de l'alcool en présence d'alcool-déshydrogénase (ADH) au niveau de la muqueuse, selon la réaction suivante :

$$CH_3 - CH_2 - OH + NAD^+ \underset{}{\overset{ADH}{\rightleftharpoons}} CH_3 - CHO + NADH_2$$

Nous avons recherché les conditions de cette réaction dans l'estomac de Rat, dans différents cas d'intoxication alcoolique.

1- Nous avons remarqué que l'estomac a une concentration en ADH plus élevée que le foie mais qu'il y a très peu d'ADH dans la muqueuse intestinale ; ces différences de concentration observées laissent penser que le métabolisme de l'alcool a donc lieu presque spécifiquement dans certains organes.

2- En mesurant l'activité enzymatique de l'ADH après un traitement alcoolique aigu, nous avons observé que la quantité d'ADH est diminuée quinze minutes après , dans le foie et dans l'estomac mais pas dans l'intestin. Ceci est un premier résultat qui fait penser que l'estomac peut être le siège d'un métabolisme de l'éthanol.

3- Au cours d'une administration d'éthanol à long terme, nous n'avons noté de modifications ni de l'activité alcool-déshydrogénasique ni de la sécrétion gastrique.

4- Ces observations concernant l'alcool - déshydrogénase ont été confirmées par la mesure des variations du coenzyme et du rapport NAD^+ / $NADH_2$. Nous avons noté que ce rapport est très significativement diminué dans le foie et dans l'estomac, quinze minutes après une intoxication éthanolique aiguë alors qu'il n'y a pas de modification significative dans l'intestin. La mesure séparée du NAD^+ et du $NADH_2$ dans ces conditions, nous a montré d'une part que dans le foie et dans l'estomac, la diminution du rapport NAD^+ / $NADH_2$ était due à une diminution du NAD^+ et à une augmentation du $NADH_2$, d'autre part que la somme NAD^+ + $NADH_2$ ne subit pas de variations significatives. Il paraît donc certain que l'éthanol est réellement métabolisé dans l'estomac.

5- L'augmentation du $NADH_2$ pourrait alors, dans ces conditions, justifier en partie au moins l'augmentation de la sécrétion des ions H^+ ; bien que l'on ne connaisse pas à l'heure

actuelle le mécanisme biochimique de la sécrétion acide, il est en effet probable que la chaîne des transporteurs d'hydrogène intervienne dans la libération des ions H^+ ; ainsi une augmentation de nicotinamide-adénine-dinucléotide sous forme réduite produirait-elle une hyperacidité gastrique si l'on admet que la cellule pariétale est capable d'utiliser spécifiquement les transporteurs d'hydrogène dans la production d'acide chlorhydrique.

III- CONCLUSION.

Le but de notre travail a donc été de préciser le rôle hypersécréteur de l'éthanol au niveau de l'estomac, et de dégager les principales voies de ce phénomène. D'après nos résultats, il est permis de penser que l'alcool agit par les différentes voies qui règlent normalement la sécrétion; l'effet local qui correspond à la phase gastrique de la sécrétion normale intervient dans l'hypersécrétion, de même que la décharge gastrinique. Par ailleurs dans l'état actuel de nos connaissances, il est difficile de dire quelle voie métabolique est à l'origine de cette grande production d'ions H^+ au niveau de la muqueuse gastrique ; en effet, l'étude des relations possibles entre la glycolyse et la sécrétion acide, étude entreprise par plusieurs auteurs, s'est soldée par un échec mais en ce qui concerne l'hypersécrétion due à l'alcool, il semble à peu près sûr que la déshydrogénation de l'éthanol intervient dans l'augmentation de l'acidité gastrique. Ceci permet d'établir que la muqueuse gastrique est très spécifique quant à sa sécrétion et qu'elle est aussi un lieu de métabolisme et d'absorption plus important que ce que l'on a pu soupçonner .

++++++++++++++++

BIBLIOGRAPHIE

1 - ABRAHAM J., MORIN-JOMAIN M. et PERETIANU J. - Nouvelle technique de détermination de la composition corporelle des animaux de laboratoire.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1964, 46 , 755-758.

2- ABSOLON K.B. - The use of albumin I ^{131} for proteolytic and antiproteolytic activity determination.
Surg. Forum, 1955 , 5 , 543-548.

3 - ACHARYYA B.P. DE U.N. et MUKHERJEE S.K. - Effect of synthetic anti-diabetic compounds and insulin on the alcohol-induced gastric acidity in rabbits.
Ind. Jour. Med. Res., 1961, 49 , 62-67.

4 - ADER R., TATUM R. et BEELS C.C. - Social factors affecting emotionality and resistance to disease in animals-I- Age of separation from the mother and susceptibility to gastric ulcers in the rat.
J. comp. Physiol. Psychol., 1960, 53 , 446-454.

5 - ALBERTINI A., BONERA E., MARCONI M. et CESSI D.- Effeti dell' intossicazione alcoolica acuta sull'attivita dell'alcool deidrogenasie delle transaminasi epatiche nel ratto.
Metabolismo, 1968, 4 , 233-240.

6 - ALLAN F.D. et SWINYARD C.A. - Evaluation of tissue tolerance to ethyl alcohol by alterations in electroshock seizure threshold in rats.
Anat. Rec., 1949, 103 , 419.

7 - ALPHIN R.S. et LIN T.M. - Preparation of chronic denervated pouches in the rat.
Amer. J. Physiol., 1953, 197 , 257-259.

8 - ALPHIN R.S. et LIN T.M. - Response of chronic denervated gastric pouches of rats to food and histamine.
Amer. J. Physiol., 1962, 203 , 641-643.

9 - ALTAMIRANO M. - Actions of solutions of reduced osmotic concentration on the dog gastric mucosa.
Amer. J. Physiol., 1969, 216, 25-32.

10- ALTAMIRANO M. - Backdiffusion of hydrogen ions during gastric secretion.
Amer. J. Physiol., 1970, 218, 1-6.

11- AMURE B. O. et GINSBURG M. - Inhibitors of histamine catabolism and the action of gastrin in the rat.
Brit. J. Pharmacol., 1964, 23 , 476-485.

12- AMURE B.O. et OMOLE A.A. - Acid gastric secretory responses to histamine crude porcine gastrin and pentagastrin in rats.
J. Pharm. Pharmacol., 1970, 22 , 452-455.

13- ANDERSON W. et SOMAN P.D. - Histamine gastric ulceration in the guinea pig - Some observations on a new method.
J. Pharm. Pharmacol., 1965, 17 , 92-97.

14- ANDERSON W. - Macrocationic enzyme inhibition : pepsin and two polylysines.
J. Pharm. Pharmacol., 1970, 22 , 795-797.

15- ANDERSSON S. - Vagal and antral influences on the action of gastrin.
Dans " Gastrin " , U.C.L.A. Forum Med. Sci., 5 , 109-137 (M.I. GROSSMAN Ed., Univ. California Press, 1966).

16- ANDERSSON S. et GROSSMAN M.I. - Effects of histalog and secretin on gastro-duodenal profile of pH, potential difference and pressure in man.
Gastroenterology, 1966, 51, 10-17.

17- ANDERSSON S.- Gastric and duodenal mechanisms inhibiting gastric secretion of acid.
Handbook of Physiology, Section 6, vol.II, 1967, 865-877.
American Physiol. Society, WASHINGTON, C.F. CODE editor.

18- ANSON M.L. et MIRSKY M.E. - The estimation of pepsin with hemoglobin.
J. Gen. Physiol., 1932, 16 , 59-63.

19- ANTIA F., ROSIERE C.E., ROBERTSON C. et GROSSMAN M.I. - Effect of vagotomy on gastric secretion and emptying time in dogs.
Amer. J. Physiol., 1951, 166 , 470-479.

20- ANTON A.H. et SAYRE D.F. - A modified fluorometric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 1969, 166 , 285-292.

21- ANTONSEN S. - Antagonism of gastrin and histamine stimulated gastric secretion in rats.
Acta Pharmacol. Toxicol., 1967, 24 , 427-434.

22- AUGUR N.A. - Gastric mucosal blood flow following damage by ethanol, acetic acid or aspirin.
Gastroenterology, 1970, 58 , 311-320.

23- AUTUORI F. et ARGENTO-CERU M.P. - Localizzazione intracellulare de l'istamina nel fegato di ratto.
Ric. Sci., 1968, 38 , 139-146.

24- BABKIN B.P. - Secretory mechanism of digestive glands
P.B. Hoeber, New-York, 1950

25- BADER J.P., LAUDAT P., DUBRASQUET M., BONFILS S. et LAMBLING A.-Pouvoir sécrétagogue (P.S.U.) d'une fraction d'urine humaine vis-à-vis de l'estomac de rat.
Compt. Rend.Soc.Biol. , 1963, 157 , 1390-1393.

26- BAKER L.E. - New synthetic substrates for pepsin.
J. Biol. Chem., 1951, 193 , 809-819.

27- BANNISTER W.H. - The effect of some substrates and metabolic inhibitors acting on the respiratory chain on acid secretion and oxygen uptake by gastric mucosa of the frog.
J. Physiol. (London), 1965, 177 , 440-452.

28- BARABAS A.P., PAYNE R.A., JOHNSTON I.D.A. et BURNS G.P.- The effect of vagotomy on gastrin stimulated gastric acid secretion in man.
Lancet, 1966, 1 (7429), 118-119.

29- BARKER J.B. et SUMMERSON W.A. - The colorimetric determination of latic acid in biological material.
J.Biol. Chem., 1941, 138 , 535-544.

30- BARLOW O.W., BEAMS A.J. et GOLDBLATT H.- Studies on the pharmacology of ethyl alcohol.
J. Pharmac. Exp. Ther., 1936, 56 , 117-146.

31- BARON P., GRIFFATON G. et LOWY R.- Effets comparés d'une injection i.p. de fructose et de glucose sur le métabolisme du foie de rat.
Ann. Nutr.Aliment, 1969, 23 , 223-232.

32-BARRETT A.M. - Specific stimulation of gastric acid secretion by a pentapeptide derivative of gastrin.
J.Pharm.Pharmacol., 1966, 18 , 633-639.

33-BARRETT A.M. , RAVENTOS J. et SIDALL R.A.- Influence of some anesthetics on pharmacologically stimulated gastric secretion in the rat.
Brit. J. Pharmac. Chemother., 1966, 28 , 51-63.

34- BARSOUM G.S. et GADDUM J.H. - The pharmacological estimation of adenosin and histamin in blood.
J. Physiol., 1935, 85 , 1-14.

35- BARTLETT G.R. et BARNET N.N. - Some observations on alcohol metabolism with radioactive ethyl alcohol.
Quart. J. Stud. Alcohol, 1949, 10 , 381-397.

36- BATESON P.R. - A comparative in vitro evaluation of a new bismuth salt bismuth aluminate.
J. Pharm. Pharmacol., 1958, 10, 123-131.

37- BAUGH C.M., BRAVO J.L., BARCENA J. et DRAGSTEDT L.C. - Studies on the site and mechanism of gastrin release.
Arch. Surg., 1958, 76, 441-446.

38- BAUME P.E. et LAW D.H. - Effect of histamine on gastric secretion in the pylorus ligated rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1965, 119, 461-465.

39- BAUME P.E. et NICHOLLS A.- The effect of two different gastrones on acid secretion by the rat in vivo and by isolated rat gastric mucosa.
Australas Ann. Med., 1966, 15, 326-330.

40- BAXTER R.C. et HENSLEY W.J. - Effect of ethanol and cyanide on NAD/NADH ratios in rat liver.
Biochem. Pharmacol., 1969, 18, 233-236.

41- BAYLY R.C. et Mc CALLUM N.E.W. - Some aspects of alcohol in body fluids - II - The changes in blood alcohol concentration following alcohol consumption.
Med. J. Aust., 1959, 2, 173-179.

42- BEALL G.N. - Histamine in human urine.
Int. Arch. Allergy, 1965, 26, 1-17.

43- BEAUVILLE M. et RAYNAUD P. - Action de l'histamine sur la sécrétion gastrique du lapin.
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1968, 8, 531-535.

44- BEAVEN M.A., HORAKOVA Z., JOHNSON H.L., ERJAVEC F. et BRODIE B.B. - Selective labeling of histamine in rat gastric mucosa.
Federat. Proc., 1967, 26, 233-236.

45- BECK J. - Evaluation de l'activité protéolytique de la pepsine par un microdosage colorimétrique.
Ann. Pharm. Franç., 1966, 24, 109-116.

46- BELL P.R.F. - The long term effect of vagotomy on the maximal acid response to histamine in man.
Gastroenterology, 1964, 46, 387-391.

47- BENNET A. et HOGBIN B.M. - The effect of gastrin on secretion of acid by the rat stomach.
J. Physiol. (London), 1968, 198, 91 P - 92 P.

48- BERGGREN S.M., et GOLDBERG L.- Absorption of ethyl alcohol from the gastro intestinal tract as a diffusion process.
Acta Physiol. Scand., 1940, 1, 246-270.

49- BERNARD A., LAMELIN P. et DELATTRE A.- L'action hygroscopique et deshydratante de l'alcool sur les tissus vivants. I. L'estomac.
Presse Med., 1963, 48, 2287-2290.

50 -BERNARD A., LAMELIN P. et DELATTRE A.- L'action hygroscopique et deshydratante de l'alcool sur les tissus vivants. II. Le foie vasculaire.
Presse Med. 1965, 73, 2539 - 2542.

51- BERRY L.H. - Newer concepts of chronic alcoholic gastritis; gastroscopic studies.
J. Nat. Med. Ass., 1956, 106, 1970-1971.

52- BERTACCINI G., ENDEAN R., ERSPAMER V. et IMPICCIATORE N.- Actions of cerulein on gastric secretion of the dog and the rat.
Brit. J. Pharmacol., 1968, 34, 319-322.

53- BERTALANFFY F.D. - Mitotic rates and renewal times of the digestive tract epithelia in the rat.
Acta Anat., 1960, 40, 130-148.

54- BLAIR E.L., HARPER A.A., LAKE H.J., REED J.D. et SCRATCHERD T. - A simple method of preparing gastrin.
J. Physiol. (London), 1961, 156, 11 P - 13 P.

55- BLAIR E.L. - The effects of tissue extracts on the stomach.
Dans " Gastric secretion ", edited by SHNITKA T.K., GILBERT J.A.L. et HARAISON R.C., Pergamon Press 1967, 263-281.

56- BLAIR E.L., KEENLYSIDE R.M., NEWEL D.J., REED J.D. et RICHARDSON D.D.- Assay of gastrin by means of its activity acid- stimulating activity.
J. Physiol. (London), 1968, 198 , 613-626.

57- BLANK I.H. - Penetration of low molecular weight alcohols into skin. I- Effects of concentration of alcohol and type of vehicles.
J. Invest. Derm., 1964, 43 , 415-420.

58- BOAS N.F. - Method for the determination of hexosamines in tissues.
J. Biol. Chem., 1953, 204 , 553-563.

59- BOEHLE E. - Biochemical bases and aspects of hepatic damage by alcohol.
Z. Gastroenterol., 1969, 7 , 1-20.

60- BOLLMAN J.L. - A cage which limits the activity of rats.
J. Lab. Clin. Med., 1948, 33 , 1348.

61- BONFILS S., ROSSI G. et LAMBLING A. - Etude de la sécrétion gastrique du rat par fistule duodénale.
Rev. Franç. Et.Clin. Biol. ., 1958., 3 , 977-981.

62- BONFILS S., BADER J.P., DUBRASQUET M. et LAMBLING A.- Dépistage dans les urines humaines de substances excitant la sécrétion gastrique du rat.
Compt. Rend. Soc. Biol., 1963, 157 , 259-263.

63- BONFILS S., BADER J.P., DUBRASQUET M. et LAMBLING A. - Tests biologiques explorant les facteurs gastrosécrétagogues au cours du syndrome de Zollinger-Ellison .Correlation acide pepsine et pouvoir secrétagogue urinaire.
Arch. Mal. App. Dig. Nutr.,Paris, 1965, 54 , 647-662.

64- BONFILS S., VATIER J., ZEITOUN P. DUBRASQUET M. et LEMERCIER Y .-Sur quelques problèmes pratiques posés par le dosage de l'activité protéolytique (activité peptique) du suc gastrique humain.
Rev. Fr. Et. Clin. Biol., 1967,12 , 349-358.

65- BONNISCHSEN R.K. et BRINK N.G. - Liver alcohol deshydrogenase.
Meth. in Enzymol., 1955 , 1 , 495-500.

66- BOOK D.T. , CHINN A.B. et BEAMS A.J. - Studies on pepsin secretion -II- Effect of vagal resection for duodenal resection.
Gastroenterology, 1952, 20 , 458-463.

67- BOWERS R.V., BURLESON W.D. et BLADES J.F. - Alcohol absorption from the skin of man.
Quart. J. Stud. Alcohol., 1942, 3 , 31-33.

68- BOWIE D.J. et VINEBERG A.M. - The selective action of histamine and the effect of prolonged vagal stimulation on the cells of the gastric glands in the dog.
Quart. J. Exptl. Physiol., 1935, 25 , 247-257.

69- BRODIE D.A. et KNAPP P.G. - The mechanism of the inhibition of gastric secretion produced by esophageal ligation in the pylorus-ligated rat.
Gastroenterology, 1966, 50 , 787-795.

70- BRODIE D.A. , LOTTI V. J. et BAUER B.G. - Drug effects on gastric secretion and stress gastric hemorrage in the rat.
Amer. J. Dig. Dis., 1970, 15 , 111-120.

71- BROOKS A.M., JOHNSON L.R. et GROSSMAN M.I.- Effect of combinations of histamine and pentagastrin on gastric secretion in man and dog.
Gastroenterology, 1970, 58 , 470-475.

72- BROOME A., FYRO B. et OLBE L.- Localization of gastrin activity in the gastric antrum.
Acta Physiol. Scand., 1968, 74 , 331-338.

73- CAPITANUCCI P., CAPRINO L. et PIORETTI M.C.-Effeto protettore della nortryptylone sull'ulcera gastrica sperimentale.I. Produzione dell'ulcerazione per mezzo di fasciatura del piloro sul topo.
Boll.Soc. Ital. Biol. Sper., 1964, 40 , 574-578.

74- CASTEELS R.- La sécrétion de l'acide chlorhydrique par la muqueuse gastrique.
Rev. Questions Sci., 1966, 27 , 177-188.

75- CASTELUCCI A.- The changes of gastric histidine decarboxylase activity during fasting and feeding.
Experientia, 1965, 21 , 219-221.

76- CASTENFORS H., HULTMAN E. et JOSEPHSON B. - Effect of intravenous infusions of ethyl alcohol on estimated hepatic blood flow in man.
J. Clin. Invest., 1960, 39 , 776-781.

77- CENACCHI G.C., RANDI V., FUCCELLA L.M. et ROSA L. - Eliminazione urinaria di istamina libera in ratti normali ed intossicati con CCl_4.
Boll.Soc.Ital.Biol. Sper., 1961, 37 , 1093-1096.

78- CERHOVA M., SIDLOVA A. et ZELENY A.- The effect of skin inflammation on blood content of serotonin and histamine.
Physiologia Bohemoslovenica, 1962, 11 , 136-141.

79- CHAN YIP B.S.S. et JORDAN P.H. - Radioimmunoassay of gastrin using antiserum to porcine gastrin.
Proc.Soc.Exp. Biol. Med., 1970, 134 , 380-385.

80- CHARLOT J. - Détermination de l'activité pepsique du sérum par la méthode de Mirsky-II-Problèmes posés par le dosage des produits d'hydrolyse.
Ann. Pharm. Fr., 1968, 26 , 359-366.

81- CHARTERS A.C., ODELL W.D., DAVIDSON W.D. et THOMPSON J.C. - Developpement of radioimmunoassay for gastrin.
Arch. Surg. (Chicago), 1969, 99 , 361-364.

82- CHAUHAN S. et DONIACH I. - Effect of ethanol consomption on growth rate in adult rats.
Nutr. Dieta, 1968, 10 , 91-99.

83- CHERET A.M. et BONFILS S.- Etude electrophorétique des protéines du suc et de la muqueuse gastrique de différentes espèces animales.
Pathol. Biol., 1968, 16 , 1061-1070.

84- CHERET A.M. et BONFILS S. - Pepsine et pepsinogène - Origine, propriétés, préparation.
Pathol. Biol., 1970, 18 , 317-342.

85- CHILDS A.W., KIVEL R.M. et LIEBERMAN A.- Effect of ethyl alcohol on hepatic glutamic-oxalacetic transaminase production in man.
Gastroenterology, 1963, 45 , 176-181.

86- CHITTENDEN R.H., MENDEL L.B. et JACKSON H.C. - A further study of the influence of alcohol and alcoholic drinks upon digestion with special references to secretion.
Amer. J. Physiol., 1898, 1 , 164-209.

87- CHOW R.B. et KASSEL B. - Bovine pepsinogen and pepsin.
J. Biol. Chem., 1968, 243 , 1718-1724.

88- CODE C.F. - Do the vagus nerves have an inhibitory influence on gastric secretion ?
Federation Proc., 1953, 12 , 26-27.

89- CODE C.F. - Histamine and gastric secretion.
Dans " Histamine " (G.E.W. WOLSTENHOLME et D.CONNOR, Eds) Churchill, London, 1956, 189-219.

90- CODE C.F., MIGGINS J.A., MOLL J.C., ORVIS A.L. et SCHOLER J.F - The influence of acid on the gastric absorption of water, sodium and potassium.
J. Physiol. (London), 1963, 166 , 110-119.

91- CODE C.F., MOLL J.C. et ORVIS A.L. - Validation of insorption by blood analysis with comparisons of systemic and portal vein disappearances of D_2O, ^{24}Na and ^{42}K.
J. Appl. Physiol., 1963, 18 , 829-833.

92- CODE C.F. , LA FORCE R.C. et SCHLEGEL J.F. - In vivo determination of electrical properties of canine gastric mucosa.
J. Physiol. (London), 1969, 205 , 34 P- 35 P.

93- COLIN- JONES D.G. et HIMSWORTH R.L. - Location of the chemoreceptor controlling gastric acid secretion during hypoglycemia.
J.Physiol. (London), 1970, 206 , 397-409.

94- COOKE A.R. - Comparison of acid and pepsin outputs from gastric fistula dogs in response to histamine, gastrine and related peptides.
Gastroenterology, 1967, 53 , 579-583.

95- COOKE A.R. et BIRCHALL A.- Absorption of ethanol from the stomach.
Gastroenterology, 1969, 57 , 269-272.

96- CORI C.F., VILLIAUME E.L. et CORI G.T. - Studies on intestinal absorption-II-The absorption of ethyl alcohol.
J.Biol.Chem., 1930, 87 , 19-25.

97- CUMMINS J.T. et VAUGHAN B.E. - Acid secretion and electrogenesis in isolated rat stomach.
Nature, 1965, 205, (4978) 1324-1330.

98- DAJANI R.M., DANIELSKI J. et ORTEN J.M. - The utilization of ethanol-II-The alcohol-acetaldehyde dehydrogenase systems in the liver of alcohol-treated rats.
J. Nutrition, 1963, 80 , 196-204.

99- DAJANI R.M., GHANDUR-MNAYMNEH L., HARRISSON M. et NASSAR T.- The utilization of ethanol-III-Liver changes induced by alcohol.
J. Nutr., 1965, 86, 29-36.

100- DAVENPORT H.W. et CHAVRE V.J. - Evidence that glycolysis contributes to gastric acid secretion.
Amer. J. Physiol., 1952, 171 , 1-6.

101- DAVENPORT H.W., CHAVRE V.J. et DAVENPORT V.G. - Sulfhydryl groups and gastric acid secretion.
Amer.J. Physiol., 1956, 184 , 1-10.

102- DAVENPORT H.W. - Sodium space and acid secretion in frog gastric mucosa.
Amer. J. Physiol., 1963, 204 , 213-216.

103- DAVENPORT H.W. - Fluid produced by the gastric mucosa during damage by acetic and salicylic acid.
Gastroenterology, 1966, 50 , 487-499.

104- DAVENPORT H.W. - Ethanol damage to canine oxyntic glandular mucosa.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1967, 126 , 657-662.

105- DAVENPORT H.W., REHM W.S. et OVERHOLT B.F. - Absorption through unstimulated and secreting canine oxyntic glandular mucosa.
Proc.Soc.Exp.Biol. Med., 1967, 126 , 841-844.

106- DAVENPORT H.W. - Gastric mucosal hemorrhage in dogs-Effects of acid, aspirin and alcohol.
Gastroenterology, 1969, 56 , 439-449.

107- DAVES I.A., MILLER J.H., LEMMI C.A.E. et THOMPSON J.C. - Mechanism and inhibition of alcohol stimulant gastric secretion.
Surg. Forum, 1965, 16 , 305-307.

108- DAVIES R.E. - The mechanism of hydrochloric acid production by the stomach.
Biol. Rev., 1951, 26 , 87-121.

109- DAVIDSON W.D., DAVES I.A., LEMMI C.A.E., MILLER J.H. et THOMPSON J.C. - Dose response curves of denervated atogenous and homotransplanted canine fundic pouches stimulated with purified gastrin and histamine.
Gastroenterology, 1966, 51, 180-192.

110- DAVIDSON W.D., LEMMI C.A.E. et THOMPSON J.C. - Action of gastrin on the isolated gastric mucosa of the bullfrog.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1966, 121 , 545-547.

111- DAVIDSON W.D., LEMMI C.A.E. et THOMPSON J.C. - Response of isolated bullfrog gastric mucosa to a gastrin-like peptapeptide.
Nature, 1967, 214 (5088), 595-596.

112- DAVIDSON W.D., URUSHIBARA D. et THOMPSON J.C. - Action of pancreozymin cholesystokinin on the isolated gastric mucosa of the bullfrog.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1968, 129 , 711-713.

113- DAVIDSON W.D. , URUSHIBARA O. et THOMPSON J.C. - Comparison of the effects of human and porcine gastrin on isolated gastric mucosa of the bullfrog.
Proc. Soc. Exp. Biol.Med., 1969, 130 , 204-206.

114- DEBRAY C., HARDOUIN J.P., VASSEUR B., CERF M., MARTIN E., MIGNON M. et GOUIN B.- Mise en évidence d'activités gastrosecretagogues d'origine pancréatique.
Ann. Med. interne, 1969, 120 , 37-47.

115- DELANEY J.P. et GRIM E.- Canine gastric blood flow and its distribution.
Amer.J. Physiol., 1964, 207 , 1195-1202.

116- DELRUE G.- Etude de la sécrétion de l'estomac.
Arch. Intern. Physiol., 1930, 33 , 196-199.

117- DERACHE R. - L'alcool dans l'alimentation.
Vie Médicale, 1970, 2 , 3223-3232.

118- DESNUELLE P., ROVERY M. et BONJOUR G. - Quelques nouvelles observations sur le mode d'attaque de la globine de cheval et de l'albumine d'œuf par la pepsine.
Biochim. Biophys. Acta , 1950, 5 , 116-137.

119- DICKINSON F.M. et DALZIEL K.- The specificities and configurations of ternary complexes of yeast and liver alcohol dehydrogenase.
Biochem. J., 1967, 104 , 165-172.

120- DIKSTEIN S. et SULMAN F.G. - Rat stomach preparation in vitro.
Biochem. Pharmacol., 1965, 14 , 355-357.

121- DOBRESCU D. - Influence de substances sécrétagogues gastriques sur l'anhydrase carbonique.
Arch. Int. Pharmacodyn., 1967, 166 , 167-171.

122- DORCHESTER J.E.C. - Changes in weight and composition of stomach and small intestine of rats after vagotomy.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1959, 102 , 49-50.

123- DRABKIN D.L.- Spectrophotometric studies-XIII- The absorption spectrum of isolated dihydrocozymase.
J. Biol. Chem., 1945, 157 , 563-570.

124- DRAGSTEDT C.A., GRAY J.S., LAWTON A.H. et RAMIREZ de ARELLANO M.- Does alcohol stimulate gastric secretion by liberating histamine ?
Proc. Soc. Exp.Biol.Med., 1940, 43 , 26-28.

125- DRAGSTEDT L.R., WALTON B.C. et WOODWARD E.R. - Gastrin, a stimulant of pepsin secretion.
Arch. Surg., 1963, 86 , 304-307.

126- DRAGSTEDT L.R., de LA ROSA C.,WOODWARD E.R., HERRERA FERNANDEZ F. et TSUKAMOTO M. - The mechanism for gastrin release.
Arch. Surg., 1968, 97 , 816-825.

127- DRAPANAS T., ALDER W., YANG J.O. et Mc MENAMY R.H.- Primary regulation of histamine metabolism by the liver.
Ann. Surg., 1965, 161 , 447-455.

128- DUNCAN J.G.C. et WATON N.G. - Further studies on the origin of tissue histamine, with special reference to intestinal absorption.
Int.Arch. Allergy, 1969, 36 , 31-40.

129- DURBIN R.P. et KASBEKAR D.K. - Adenosine triphosphate and active transport by the stomach.
Federation Proc., 1965, 24 , 1377-1381.

130- EDKINS N. et MURRAY M.M. - The effect of CO_2 on the absorption of alcohol and the influence of alcohol on the diffusion of $^2CO_2$ in the small intestine.
J. Physiol., 1926, 62 , 13-16.

131- ELMSLIE R.G. et HARVEY N.- Alcohol absorption rate from different parts of the gut.
Quart.J.Stud. Alcohol, 1968, 29 , 308-312.

132- ELSON L.A. et MORGAN W.T.J.- Colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine.
Biochem. J. , 1933, 27 , 1824-1828.

133- ELWIN C.E. et UVNAS B. - Distribution and local release of gastrin.
Dans " Gastrin ", GROSSMAN M.I., ed., UCLA Forum Med. Sci., 1966, 69-82.

134- ELWIN C.E. - Stimulation of gastric acid secretion by irrigation of the antrum vith some aliphatic alcohols.
Acta Physiol. Scand., 1969, 75 , 1-11.

135- ELWIN C.E. - Some factors influencing the stimulatory effect of ethanol on gastric acid secretion during antrum application.
Acta Physiol. Scand., 1969, 75 , 12-27.

136- EMAS S., FYRÖ B. et UVNAS B. - Vagal influences on the gastrin content of antral mucosa.
Dans " Gastric secretion, Mechanisms and Controls", edited by SHNITKA T.K. GILBERT J.A.L. et HARRISON R.C., Pergamon Press, 1967, 111-118.

137- EMAS S. et GROSSMAN M.I. - Effect of truncal vagatomy on acid and pepsin responses to histamine and gastrin in rats.
Amer. J. Physiol., 1967, 213 , 657-662.

138- FAZEKAS I.G. et RENGEI B.-Über die alkoholdehydrogenase aktivität der organe normaler und alkoholbehandelter ratten.
Enzymologia, 1968, 34 , 231-236.

139- FAZEKAS I.G. et RENGEI B.-Über den NAD und $NADH_2$- gehalt der leber, des herzens und der nieren von normalen und mit alkohol behandelten ratten.
Enzymologia, 1968, 35 , 263-269.

140- FERGUSON D.J. - The antral phase of gastric secretion before and after vagotomy. Experiments on gastric pouch dogs.
Surgery, 1963, 33 , 352-360.

141- FIGUEROA R.B. et KLOTZ A.P. - Alterations of alcohol dehydrogenase and other hepatic enzymes in experimental chronic liver disease.
Metabolism, 1962, 11 , 1169-1180.

142- FIGUEROA R.B. et KLOTZ A.P. - The effect of whiskey and low protein diets on hepatic enzymes in rats.
Amer.J. Dig. Dis., 1964, 9 , 121-127.

143- FOLIN O. et CIOCALTEU V. - Tyrosine and tryptophan determinations in proteins.
J. Biol. Chem., 1927, 73 , 627-650.

144- FOLIN O. et MALMROS H. - Improved form of Folin's micromethod for blood sugar determination.
J. Biol. Chem., 1929, 83 , 115 - 120.

145- FORSANDER O. - Effects of ethanol on metabolic pathways
Dans " International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics", 1970, Section 20, volume I, 117-135, Pergamon Press.

146- FORTE J.G. et NAUSS A.H. - Effects of calcium removal on bullfrog gastric mucosa.
Amer. J. Physiol., 1963, 205 , 631-637.

147- FORTE J.G., ADAMS P.H. et DAVIES R.E. - Acid secretion and phosphate metabolism in bullfrog gastric mucosa.
Biochim. Biophys. Acta, 1965, 104 ,25-38.

148- FOSSATI C.- Accion sobre la secretion gastrica de una solucion alcoholica suministrada por via endovenosa.
Pr. Med. Arg., 1938, 25 , 1809-1812.

149- FRAILE A. et GONALONS E.-Excrecion urinaria de histamina en la rata.

Rev. Espan. Fisiol., 1964, 20 , 53-57.

150-FRIEDENWALD J. - The pathologic effects of alcohol on rabbits. An experimental study.
J. Am. Med.Ass., 1905, 45 , 780-784.

151- FRIEDMAN M.H.F. - Histamine ineffective in the rat as a gastric secretory stimulant.
Proc. Soc.Exp. Biol.Med., 1943, 54 , 42-44.

152- FROUIN A. et MOLINIER M. - Action de l'alcool sur la sécrétion gastrique.
Compt. Rend.Acad.Sci., 1901, 132, 1001-1003.

153- GAILLARD D. et DERACHE R. - Métabolisation de différents alcools présents dans les boissons alcooliques, chez le rat.
Trav.Soc.Pharm. Montpellier, 1965, 25, 51-62.

154- GAILLARD D. - Effets physiopathologiques comparés des alcools des boissons chez le rat.
Thèse de Sciences, Toulouse, 1969, 213 pages.

155- GAILLARD D., MITJAVILA S. et DERACHE R.- Influence du système réticulo-endothélial dans la métabolisation et l'absorption des alcools stéatogènes chez le rat.
Pathol. Biol., 1970, 18 , 399-402.

156- GAMBA M.F. et VETTORI G. - Azione di farmaci sulla secrezione dello stomaco di ratto in vitro.
Boll. Soc.Ital. Biol. Sper. , 1968, 44 , 186-189.

157- GANGULI P. C. et SIMPSON C.M. - The dose response relation between pentapeptide(I C I 50.123) and acid pepsin secretion in conscious rats.
J. Physiol. (London), 1968, 198, 358-368.

158- GARBARG M., HIRSCH A., PELLETIER G., HALPERN B.N. et CROC A.M. -Influence de l'administration du pyridoxal-5-phosphate sur la biogénèse de l'histamine dans la muqueuse gastrique et dans la peau chez le rat carencé en pyridoxine.
Compt. Rend.Soc.Biol., 1965, 159 , 26-29.

159- GARBARG M., PELLETIER G. et HALPERN B.N.- Influence du conditionnement et de la nature quantitative des aliments sur l'activation de l'histidine decarboxylase gastrique.
Compt. Rend. Soc.Biol., 1965, 159, 2312-2317.

160- GARDINER R.J. et STEWART H.B. - Blood alcohol and glucose changes after ingestion of Ale, Wine and spirit.
Quart. J. Stud. Alcohol., 1968, 29 , 313-322.

161- GEALL M.G., PHILLIPS S.F. et SUMMERSKILL W.H.J. - Profile of Gastric p.d. in man. Effects of aspirin, alcohol, bile and endogenous acid.
Gastroenterology, 1970, 58 , 437-443.

162- GERRING E.L. et ALLEN E.A.- A nephelometric pepsin method.
Clin.Chim.Acta , 1969, 24 , 437-443.

163- GHOSH M.N. et SCHILD H.O. - Continuous recording of acid gastric secretion in the rat.
Brit. J. Pharmacol., 1958, 13, 54-61.

164- GHOSH M.N.- A quantitative method for the assay of inhibitors of acid gastric secretion in the rat.
Brit. J. Pharmacol., 1958, 13 , 118-124.

165- GILLESPIE I.E., CLARK D.H., KAY A.W. et TANKEL H.I.- Effect of antrectomy vagotomy with gastrojejunostomy and antrectomy with vagotomy on the spontaneous and maximal gastric acid output in man.
Gastroenterology, 1960, 38 , 361-367.

166- GILLESPIE R.J.G. et LUCAS C.C. - Effect of single intoxicating doses of ethanol on the gastric and intestinal mucosa of rats.
Can.J. Biochem. Physiol., 1961, 39, 237-241.

167- GILLESPIE R.J.G. et LUCAS C.C. - Effect of single intoxicating doses of ethyl alcohol upon the hepatic lipids of rats.
Can.J. Biochem.Physiol., 1961, 39, 243-247.

168- GILLESPIE I.E. et BOWEN D.J. - The gastric secretion of pepsin in man.
Gut, 1962, 3 , 255-259.

169-GLICK D., VON REDLICH D., LEVINE S. et JONES L. - Effect of adrenal stimulation on histamine in the rat stomach.
Gastroenterology, 1966, 51 , 18-23.

170- GLUZINSKI C.A. von - Über der einfluss des alkohols auf funktion des menschlichen Magens, sowohl im physiologischen wie im pathologischen. Zustande.
Deutch. Arch. Klin Med., 1886, 39 , 405-430.

171- GONALONS E. et FRAILE A.-Excrecion urinaria de histamina en la rata en relacion con el sexo.
Rev. Espan. Fisiol., 1965, 21 , 43-47.

172- GRAHAME G.R., GARRET J.M. et HIRSCHOWITZ B.I. - 2-deoxyglucose and histamine effects on gastric motility and secretion in the dog.
Amer. J. Physiol., 1968, 215 , 243-248.

173- GRAHN B. et SVENSSON S.E. - Evidence of gastrin-like activity in the rat's antrum.
Experientia, 1970, 26 , 372 .

174- GRAY J.S. et BACHRACH W.H. - Effects of atropine and fat on gastric secretion stimulated by alcohol.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1940, 43 , 36-38.

175- GREENBERG L.A., LOLLI G. et RUBIN M. - The influence of intravenously administered alcohol on the emptying time of the stomach.
Quart. J. Stud. Alcohol, 1942, 3 , 371-375.

176- GREENBERGER N.S., COHEN R.B. et ISSELBACHER K.J. - The effect of chronic ethanol administration on liver ADH activity in the rat.
Laborat. Investigation, 1965, 14 , 264-271.

177- GREGGIO E.- Des ulcères gastroduodenaux.
Arch. Med. Exp. Anat. Path., 1917, 28 , 533-590.

178- GREGORY R.A. et TRACY H.J. - The preparation and properties of gastrin.
J. Physiol. (London) 1961, 156 , 523-543.

179- GREGORY R.A. et TRACY H.J. - The constitution and properties of two gastrins extracted from hog antral mucosa. Part I the isolation of two gastrins from hog antral mucosa. Part 2 The properties of two gastrins isolated from hog antral mucosa.
Gut, 1964, 5 , 103- 117.

180- GREGORY H., HARDY P.M., JONES D.S., KENNER G.W. et SCHEPPARD R.C. - The antral hormone gastrin. Structure of gastrin.
Nature , 1964, 204 ,(4962), 931-933.

181- GREGORY R.A. - Isolation and chemistry of gastrin.
Dans " Alimentary Canal", 1967, 2 , 827-834, Handbook of Physiology C.F. CODE ed., Amer. Physiol. Soc. Washington.

182- GRIFFATON G. - Voies métaboliques de l'oxydation de l'éthanol chez le rat.
Thèse d'université, Paris, 1966, 135 pages.

183- GROSSBERG A.L. , KOMAROV S.A. et SHAY H. - Mucoproteins of gastric juice and mucus and mechanism of their secretion.
Amer. J. Physiol., 1950, 162, 136 - 146.

184- GROSSMAN M.I. - Cholinergic potentiation of the response to gastrin.
J. Physiol. (London), 1961, 157, 14 P.

185- GROSSMAN M.I. , TRACY H.J. et GREGORY R.A.- Zollinger-Ellison syndrome in a bantu woman, with isolation of a gastrin-like substance from the primary and secondary tumors. II- Extraction of gastrin-like activity from tumors.
Gastroenterology, 1961, 41 , 87-91.

186- GROSSMAN M.I. - Some aspects of gastric secretion.
Gastroenterology, 1967, 52 , 882-892.

187- GROSSMAN M.I.- Neural and hormonal stimulation of gastric secretion of acid.
Dans " Alimentary canal", 1967, 2 ,835-863, Handbook of Physiology C.F.CODE, ed. Amer. Physiol. Soc. Washington.

188- GROSSMAN M.I. - Physiological role of gastrin.
Federat.Proc., 1968, 27 , 1312-1313.

189- GROSSMAN M.I. - Gastrointestinal hormones.
Med.Clin.N.Amer., 1968, 52 , 1297-1303.

190- GRUBER C.M. - A theoretical consideration of additive and potentiated effects between drugs with a pratical example using alcohol and barbiturates.
Arch.Int.Pharmacodyn., 1955, 102 , 17-32.

191- GUSTAFSSON A. et FORSHELL G.P.- Enzymic methylation of histamine.
Acta Chem.Scand., 1964, 18 , 2069-2076.

192- HAGGARD H.W. et GREENBERG L.A. - Studies in the absorption, distribution and elimination of ethyl alcohol-II-The excretion of alcohol in urine and expired air; and the distribution of alcohol between air and water, blood and urine.
J.Pharmacol.Exper.Ther., 1934, 52 , 150-166.

193- HAKANSON R., LILJA B., OWMAN C. et THUNELL S.- Changes in gastric secretion induced by certain amines precursors, and related enzyme inhibitors.
Eur.J.Pharmacol., 1967, 1 , 425-433.

194- HALLENBECK G.A., CODE C.F. et MAC ILRATH D.C. - Absence of demonstrable gastric secretagogue in normal pancreatic tissue.
Gastroenterology, 1963, 44 , 627-630.

195- HALPERN B.N., GARBARG M., HIRSCH A. et CROC A.M. - Influence de la carence en pyridoxine sur la biogénèse de l'histamine dans la muqueuse gastrique et dans d'autres tissus chez le rat.
Compt.Rend.Soc.Biol., 1965, 159 , 21-25.

196- HANDCHUMACHER R.E. et VANE R.J.- The relations between the penetration of tryptamine and 5-hydroxytryptamine into smooth muscle and the associated concentrations.
Brit.J. Pharmacol. Chemother., 1967, 29 , 105-118.

197- HANSKY J. - Response of the pylorus and œsophageal ligated rat to gastrin and a related peptide.
Aust.J. exp.Biol. Med.Sci., 1968, 46 , 473-478.

198- HARE R.S. - Endogenous creatinine in serum and urine.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1950, 74 , 148-157.

199- HARGER R.N. et HULPIEU H.R. - The Pharmacology of alcohol. Dans " Alcoholism", edite par G.N. THOMPSON, C.C. THOMAS, Springfield, 1956, 103-232.

200- HARICHAUX P. et MOLINE J. - Influence d'une ingestion d'éthanol à 10 p. 100 sur l'évacuation gastrique chez le rat.
Compt. Rend.Soc.Biol., 1964, 158 , 1389-1392.

201- HARKINS H.N., HOOKER D.H., ALFORD T.C., CALLANDER J., ELLIOT S.R., KEARNS W., MITCHENER J. et COOLEY D.A. - Symposium on vagotomy for peptic ulcer. Experimental observations.
Bull.John Hopkins Hosp., 1947, 81 , 79-91.

202- HARMON P.H. et ANDREWS E.- Effects of histamine and alcohol on acid secretion of stomach of postoperative cases.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1934, 32 , 39-40.

203- HARRIS J.B. et EDELMAN I.S. - Chemical concentration gradients and electrical properties of gastric mucosa.
Amer.J. Physiol., 1964, 206 , 769-782.

204- HEBBELINCK M. - The effects of a moderate dose of alcohol on a series of functions of physical performance in man.
Arch.Int. Pharmacodyn. , 1959, 120 , 402-405.

205- HECKMANN K.- Leitfahigkeitsmessungen und aktivitatsbestimmungen an seifen.
Kolloid Z. , 1954, 136 , 67-73.

206- HEIDELMAN G. , PETZOLD H. et TASCHEN B.- Untersuchung über die Nikotin-und Alkolwirkung auf die akrale arteriolenfunktion.
Deutch Arch.Klin.Med., 1952, 199,431-442.

207- HEIDER H. et RAUSCH F.- Der einfluf eines aminosaürengemisches auf die Magen-und die Pankreassekretion.
Arzneim. - Forsch, 1968, 18 , 877-880.

208- HEISLER S. et KOVACS E.M. - The effect of cortisone on gastric histamine content and gastric secretion in pylorus ligated guinea-pig.
Brit.J.Pharmacol.Chemother., 1967, 29 , 329-334.

209- HILL BOM M.E. et PIKKARAINEN P.H.- Liver alcohol and sorbitol dehydrogenase activities in hypo and hyper-thyroid rats.
Biochem.Pharmacol., 1970, 19 , 2097-2103.

210- HIRSCHOWITZ B.I. , POLLARD H.M., HARTWELL S.W. et LONDON J.- The action of ethyl alcohol on gastric acid secretion.
Gastroenterology, 1956, 30 , 244-256.

211- HIRSCHOWITZ B.I.- Pepsinogen, its origin, secretion and excretion.
Physiological Rev., 1957, 34 , 475-511.

212- HIRSCHOWITZ B.I. et SACHS G.- Vagal gastric secretory stimulation by 2-deoxy-D-glucose.
Amer.J.Physiol., 1965, 209 , 452-460.

213- HIRSCHOWITZ B.I.- Secretion of pepsinogen. Dans " Handbook of Physiology"-Alimentary Canal , edite par C.F. CODE , 1967,2,889-918.

214- HIRSCHOWITZ B.I. - Gastrin I, pentagastrin and histamine in the fistula dog.
Feder.Proc., 1968, 27 , 1318-1321.

215- HIRSCHOWITZ B.I.- Histamine doses responses in gastric fistula dogs. Decreasing secretion with time.
Gastroenterology, 1968, 54 , 523-531.

216- HIRSH-MARIE H.- Dosage immunochimique du pepsinogène et de la pepsine gastrique et urinaire par la méthode de Laurell.
Clin.Chim.Acta, 1969, 24 , 411-416.

217- HOELZEL F. et DE COSTA E.- Production of peptic ulcer in rats and mice by diets deficient in protein.
Amer. J.Dig. Dis., 1937, 4 , 325-332.

218- HOGBEN C.A.M. - Introduction- The natural history of the isolated bullfrog gastric mucosa.
Federation Proc., 1965, 24 , 1353-1359.

219- HOLLANDER F.-The significance of sodium and potassium in gastric secretion-A review of the problem.
Gastroenterology, 1961, 40 , 477-490.

220- HOLLANDER F.- Stimuli for gastric mucus secretion- Dans " Gastric Secretion-Mechanisms and Controls"- T.K. SHNITKA ,S.A.L. GILBERT et R. HARRISON ed.Pergamon Press, 1967, 213-214.

221- HORECKER B.L. et KORNBERG A.- The extinction coeficients of the reduced band of pyridine nucleotides.
J. Biol.Chem., 1948, 175 , 385-390.

222- HOROWITZ M.I. et HOLLANDER F.- Occurence of plasma proteins in gastric mucus and other secretions.
Ann. N.Y. Acad.Sci., 1962, 99 , 67- 73.

223- HOUSSAY H.E. J.- Megaesofago por vagotomia infradiafragmatica en la rata.
Rev. Soc.Argent.Biol., 1947, 23 , 294-298.

224- HUNT J.N. - A method for estimating peptic activity in gastric contents.
Biochem. J., 1948, 42 , 104-109.

225- IRVINE W.T., WATKIN D.B. et WILLIAMS E.S. - Mechanism by wich alcohol stimulates acid secretion.
Gastroenterology, 1960, 39,41-47.

226- ISHIDA R.- The estimation of uropepsin by West's method.
Hirosaki Igaku, 1963, 15, 548-556.

227- ISRAEL Y.- Cellular effect of alcohol - A review.
Quart. J. Stud. Alcohol., 1970, 31, 293-316.

228- IVY A.C. et MAC ILVAIN G.B. - The excitation of gastric secretion by application of substances to the duodenal and jejunal mucosa.
Amer.J. Physiol., 1923, 67, 124 - 140.

229- IVY A.C., GROSSMAN M.I. et BACHRACH W.H. - Peptic ulcer.
J. et A. CHURCHILL, Ltd, Londres, 1950

230- IVY A.C., IVY E.K., MAGID E.B. et HAYES H.B. - Gastric secretion in the rat with gastric fistula and pouch of the entire stomach.
Feder. Proc., 1956, 15, 100

231- IVY A.C. et BACHRACH W.H. - Effect of histamine on gastric secretion.
Handb. Exp. Pharmakol., 1966, 18, 302-317.

232- JAAKONMAKI P.I., KNOX K.L., HORNING E.C. et HORNING M.G.- The characterization by gas-liquid chromatography of ethyl (β-D-glucosi duronic acid as a metabolite of ethanol in rat and man.
Eur.J. Pharmacol., 1967, 1, 63-70.

233- JACOBSON E.D. EISENBERG M.M. et SWAN K.G.- Effects of histamine on gastric blood flow in conscious dogs.
Gastroenterology, 1966, 51, 466-472.

234- JACOBSON E.D., LINFORD R.H. et GROSSMAN M.I. - Gastric secretion in relation to mucosal blood flow studied by a clearance technic.
J.Clin. Invest., 45, 1966, 45, 1-13.

235- JACOBSON E.D. - Secretion and blood flow in the gastrointestinal tract.
Dans " Handbook of physiology". Section 6-tome 2, 1043-1062 C.F. CODE ed., American Physiological Society, Washington, 1967.

236- JAFFE B.M., NEWTON W.T. et Mc GUIGAN J.E. - Inhibition of endogenous gastrin activity by antibodies to the carboxyl - terminal tetrapeptide amide of gastrin.
Gastroenterology, 1970, 58, 151-156.

237- JEDEIKIN L.A. et WEINHOUSE S.- Metabolism of neoplastic tissue-VI-Assay of oxidized and reduced diphosphopyridine nucleotide in normal and neoplastic tissue.
J.Biol. Chem., 1955, 213, 271-280.

238- JEFFCOATE S.L. - Radioimmunoassay of gastrin. Specificity of gastrin antisera.
Scand. J. Gastroenterol., 1969, 4, 457-461.

239- JEPSON K. et JOHNSTON D.- Effect of vagotomy on human gastric acid secretion stimulated by gastrin pentapeptide and by histalog.
Gastroenterology, 1968, 55, 665-669.

240- JOFFE P.M. et JOLLIFFE N. - The gastric acidity on alcohol addicts, with observations on the relation of the B vitamins to achlorhydria.
Am. J. Med. Sci., 1937, 193, 501-510.

241- JOHNSON L.R. - Histamine liberation by gastric mucosa of pylorus-ligated rats damaged by acetic or salicylic acid.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1966, 121, 384-386.

242- JOHNSON L.R. et OVERHOLT B.F. - Release of histamine into gastric venous blood following injury by acetic or salicylic acid.
Gastroenterology, 1967, 52, 505-509.

243- JOHNSON L.R., JONES R.S., AURES D. et HAKANSON R. - Effect of antrectomy on gastric histidine decarboxylase activity in the rat.
Amer.J. Physiol., 1969, 216, 1051-1053.

244- JOHNSON M.J. - Isolation and properties of a pure yeast polypeptidase.
J.Biol.Chem., 1941, 137, 575-586.

245- JORDAN P.H. et QUINTANA R. - Insulin inhibition of gastrin stimulated gastric secretion.
Gastroenterology, 1964, 47 , 617-625.

246- KAHLSON G., ROSENGREN E. et THUNBERG R. - Observations on the inhibition of histamine formation.
J. Physiol., 1963, 169 , 467-486.

247- KAHLSON G., ROSENGREN E., SVAHN D. et THUNBERG R. - Mobilization and formation of histamine in the gastric mucosa as related to acid secretion.
J. Physiol., 1964, 174 , 400-416.

248- KALANT H. et ISRAEL Y. - Effects of ethanol on active transport of cations.
Dans " Biochemical factors in alcoholism", edité par R.P. MAICKEL, Pergamon Press, 1967, 25-37.

249- KALANT H.- Effectos de los alcoholes al nivel cellular.
Arch. Biol.Med.Exp, Suppl., 3 , 1969, 42-51.

250- KALANT H.- Effects of ethanol on the nervous system.
Dans " International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics", 1970, Section 20, volume I , 189-236, Pergamon Press.

251- KAMIL I.A., SMITH J.N. et WILLIAMS R.T. - A new aspect of ethanol metabolism : isolation of ethyl glucoronide.
Biochem.j., 1952, 51 , XXXII.

252- KASBEKAR D.K. et DURBIN R.P. - Adenosine triphospatase from frog gastric mucosa.
Biochim.Biophys. Acta, 1965, 105 , 472-482.

253- KASBEKAR D., RIDLEY H.A. et FORTE J.G. - Pentagastrin and acetylcholine relation to histamine in hydrogen ion secretion by gastric mucosa.
Amer. J. Physiol., 1969, 216 , 961-967.

254- KAST L. - Experimentelle Beitrage zur Wirkung des alkohols auf den Magen.
Arch. Verdaukrankh, 1906, 12 , 487-506.

255- KEILIN D. et HARTREE E.F. - Properties of catalase- Catalysis of coupled oxidation of alcohols.
Biochem. J., 1945, 39 , 293-301.

256- KENNER G.W. et SHEPPARD R. C. - Chemical studies of some mammaliam gastrins.
Proc.Roy.Soc. B., 1968, 170 , 89-96.

257- KHANNA J.M., KALANT H. et BUSTOS G. - Effects of chronic intake of ethanol on rate of ethanol metabolism.
Can.J.Physiol.Pharmacol., 1967, 45 , 777-785.

258- KIDDER G.W., CURRAN P.F. et REHM W.S. -Interactions between cytochrome system and H ion secretion in bullfrog gastric mucosa.
Amer.J.Physiol., 1966, 211 , 513-519.

259- KINARD F.W. et HAY M.G. - Effect of ethanol administration on brain and liver enzyme activities.
Amer.J. Physiol., 1960, 198 , 657-658.

260- KLATSKIN G. - The effect of ethyl alcohol on nitrogen excretion in the rat.
Yale J. Biol. Med., 1961, 34 , 124-143.

261- KLEIN H.J., GHEORGHIU T., FROTZ H. et EDER M. - Untersuchung der pentagastrinwirkung auf die sekretion des rattenmagens.
Z. Gesamte Exp. Med., 1968, 148 , 124-130.

262- KNOX W.E., AUERBACH V.H. et LIN E.C.C. - Enzymatic and metabolic adaptations in animals.
Physiol.Rev., 1956, 36 , 164-254.

263- KNUTSSON E.- Effects of ethanol on the membrane potential and membrane resistance of frog muscle fibres.
Acta Physiol. Scand., 1961, 52 , 242-253.

264- KOESTER K.M., FABER V. et ROEDBRO P. - Comparative effects of tetragastrin and histamine on pepsin secretion in man.
Scand. J. Gastroenterol, 1968, 3 , 106-109.

265- KOMAROV S.A. et BRALOW S.P.- Studies on basal gastric secretion in chronic fistula rats.
Physiologist., 1960, 3 , 96.

266- KONTUREK S. et KAULBERSZ J. - Effect of urogastrone from adrenalectomized dogs on gastric secretion.
Gastroenterology, 1963, 44 ; 801 - 804.

267- KONTUREK S.J. et GROSSMAN M.I. - Acid response to gastrin and related peptides.
Gastroenterology, 1966, 50 , 650-652.

268- KONTUREK S., SZYBINSKI Z. et HORZELA T. - Effect of medical vagotomy on acid and pepsin responses to histamine and pentagastrin in man.
Scand.J. Gastroenterol., 1967, 2 , 311-315.

269- KOTHARI M.L. , VAIDYA A.B., DOSHI J.C. et SHETH U.K. - Raison d'être of hydrochloric acid secretion by stomach.
Ind.J. Med.Sci., 1967, 21 , 1-10.

270- KOWALEWSKI K., CHMURA G. et SCHIER J. - Experimental deficiency of gastric " mucus barrier " - Its effect on gastric secretion and on the formation of acute gastric ulcer in rats infused with histamine for 24 hours.
Amer.,J.Dig. Dis., 1969, 14 , 788-796.

271- KOZLOWSKA K.- Effect of adrenocorticotrophic hormone and cortisone on the mucous cells of the rat stomach. I. Determination of hexosamines in the fundus and mucous membrane.
Endokrinologie, 1970, 55 , 344-346.

272- KRAEMER R.J. et DEITRICH R.A. - Isolation and characterization of human liver aldehyde dehydrogenase.
J.Biol.Chem., 1968, 243, 6404-6410.

273- KREBS H.A. - The effects of ethanol on the metabolic activities of the liver.
Adv. Enz. Regul., 1968, 6 , 467-480.

274- KREMZNER L.T. et PFEIFFER C.C. - Identification of substances interfering with the fluorometric determination of brain histamine.
Biochem.Pharmacol., 1966, 15, 197-200.

275- KRUEGER L. et MAC INTOSH F.C. - Alcohol as a stomachic.
Amer. J.Digest.Dis., 1937, 4 , 104-107.

276- LAI K.S. - Studies on gastrin.
Gut , 1964, 5 , 327-333.

277-LAMBERT R. - Surgery of the digestive system in the rat. C.C. THOMAS publisher, Springlield, 1965. 501 pages.

278- LAMBLING A., BONFILS S., HARDOUIN J.P. et HEWITT J. - Ulcère expérimental du rat blanc par ligature du pylore. Etude anatomique de certains organes.
Compt. Rend. Soc. Biol., 1951, 145 , 11-13.

279- LAMBLING A., BERNIER J.J., BADOZ- LAMBLING J. et DIVES C. - Contribution à l'étude de la physio-pathologie gastrique histaminique .
Actual. Biol.,Paris, 1956, 3 , 391-511.

280- LAMBLING A., VILOTTE J. et BERNIER J.J.- Alcool et muqueuse gastrique .
Progrès Med., 1959, 2 , 35-36

281- LANE A. , IVY A.C. et IVY E.K. - Response of the chronic gastric fistula rat to histamine.
Amer. J. Physiol., 1957, 190, 221-228.

282- de LA ROSA C., WOODWARD E.R. et DRAGSTEDT L.R. - Localization of the gastrin producing cell.
Surg. Forum, 1965, 26, 327-329.

283- LARSEN J.A. - Elimination of ethanol as a measure of the hepatic blood flow in the cat-I-Experiments with single injection of ethanol.
Acta Physiol. Scand., 1963, 57 , 201-208.

284- LA RUE T.A. et SPENCER J.F.T. - Production of imidazole -4-ethanol from histamine by Saccharomyces rouxii.
Experientia, 1966, 22 , 729-730.

285- LE BRETON E. - Vitesse de diffusion de l'alcool éthylique dans l'organisme selon la voie d'introduction ; dose administrée et concentration réalisée au niveau des tissus.
Compt. Rend. Soc. Biol., 1934, 117, 704-707.

286- LE BRETON E. - La concentration de l'alcool éthylique dans le sang permet-elle de conclure à sa vitesse d'oxydation dans l'organisme ?
Compt. Rend. Soc. Biol., 1934, 117 , 707-709.

287- LE BRETON E. et TREMOLIERES J. - L'utilisation de l'alcool par l'Homme. Aspect énergétique, physiologique et nutritionnel (revue générale).
Pathol. Biol., 1957, 33 , 81-101.

288- LECOMTE J.- Quelques aspects nouveaux de la physiologie de la gastrine.
Rev. Med. Liège, 1969, 24 , 361-364.

289- LEE Y.H. et THOMPSON J.H. - Effect of anesthetic agents on maximal histamine induced gastric secretion in Shay rats.
Amer. J. Physiol. 1967, 213 , 1331-1334.

290- LEE Y.H. et THOMPSON J.H. - Response of rats with chronic gastric fistula to subcutaneous injections of histamine, I.C.I. 50,123 and insulin.
Amer. J. Dig.Dis., 1969, 14 , 14-29.

291- LE MAGNEN J. et MARFAING-JALLAT P. - L'interaction entre les consommations spontanées d'alcool éthylique et de divers régimes alimentaires chez le rat blanc.
Arch. Sci. Physiol., 1962, 16 , 179-192.

292- LESTER D. et GREENBERG L.A. - The inhalation of ethyl alcohol by man.
Quart. J. Stud. Alcohol , 1951, 12 , 167-178.

293- LEVINE R.J. - Variation in gastric histamine level and effects of histidine decaboxylase inhibition in rats from differents sources.
Biochem. Pharmacol., 1966, 15 , 403-405.

294- LEVINE R.J. - Histamine and the effect of gastrin on gastric acid secretion in man.
Feder. Proc., 1968, 27 , 1341-1344.

295- LEVINE R.J. et SENAY E.C. - Histamine in the pathogenesis of stress ulcers in the rats.
Amer. J. Physiol., 1968, 214 , 892-896.

296- LICK R.E., BRUCKNER W., BECK O. et HART W.- Wirkung von atropin auf die stimulierte Magensekretion bei ratten . Sekretionsstudien an Shay-Präparationen.
Med.Klin., Dtsch, 1967, 62, 414-417.

297- LIEBER C.S. et SCHMID R. - The effect of ethanol on fatty acid metabolism-Stimulation of hepatic fatty acid synthesis in vitro.
J. Clin. Invest., 1961, 40 , 394-399.

298- LIEBER C.S., JONES D.P. et DE CARLI L.M. - Effects of prolonged ethanol intake; production of fatty liver despite adequate diets.
J. Clin. Invest., 1965, 44 , 1009-1021.

299- LINDE S. - Studies on the stimulation mechanism of gastric secretion.
Acta Physiol. Scand., 1950, 21 , 1-92.

300- LINK E. et OTTENJANN R. - Gastric secretion and intravenous injection of potassium.
Digestion, 1968, 1 , 277-288.

301- LISON L. - Statistique appliquée à la biologie expérimentale.
Gauthiers-Villars, éditeurs, Paris , 1958, 346 pages.

302- LOLLI G. et GREENBERG L.A. - The effect of insulin on the rate of disappearance of alcohol from the stomach.
Quart. J.Stud. Alcohol, 1942, 3 , 92-96.

303- LOLLI G. et RUBIN M. - Alcohol and the emptying time of the stomach.
Quart. J. Stud. Alcohol, 1943, 4 , 64-67.

304- LOMBARDI D. , CONDORELLI S. et PISANO L. - Composizione in lipidi en acidi grassi del sugo gastrico di soggetti a digiuno e dopo una stimulazione alcoolica.
Ric. Sci., 1966, 36 , 1052-1062.

305- MACARULLA J.M. et MENDIA B.- Efecto osmotico del etanol. Relacion entre el nivel de alcohol y el incremento de la osmolidad del plasma.
Rev. Espan. Fisiol. , 1962, 18 , 31-37.

306- Mc GUIGAN J.E. - Immunochemical studies with synthetic human gastrin.
Gastroenterology, 1968, 54 , 1005-1011.

307- Mc GUIGAN J.E. - Immunological specifity of antibodies to human gastrin.
Gastroenterology, 1969, 56 , 429-438.

308- MAC INTOSH F.C. - Histamine as a normal stimulant of gastric secretion.
Quart.J.Exp.Physiol., 1938, 28 , 87-98.

309- Mc QUARRIE D.G. et VENNES J.A. - Contributions of anaerobic mechanisms to hydrogen ion transport in the dog stomach.
J. Lab. Clin. Med., 1970, 75 , 61-73.

310- MADDEN R.J., RAMSBURG H.H. et HUNDLEY J.M. - A critical study of the Shay rat.
Gastroenterology , 1951, 18 , 119-127.

311- MADISON L.L. - Ethanol-induced hypoglycemia.
Advan.Metab.Disord., 1968, 3 , 85-109.

312- MAGNUSSEN M.P. - The effect of ethanol on the gastrointestinal absorption of drugs in the rat.
Acta Pharm. Tox., Kbh, 1968, 26 , 130-144.

313- MAITRYA B.B. - Influence of alcohol on gastric secretion.
Ann.Biochem., 1963, 23 , 539-542.

314- MAKHLOUF G.M., Mc MANUS J.P.A. et CARD W.I. - Action of the pentapeptide on gastric secretion in man.
Gastroenterology, 1966, 51 , 455-465.

315- MAKHLOUF G.M., Mc MANUS J.P.A. et CARD W.I. -Comparative effect of gastrin II and histamine on pepsin secretion in man.
Gastroenterology, 1967, 52 , 787-789.

316- MALING H.M. - Toxicology of single doses of ethyl alcohol.
Dans " International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics", 1970, section 20, volume 2, 277-299, Pergamon Press.

317- MANTEGAZZA P. et PICCINI F. - Titolazione continua della secrezione acida dello stomaco del ratto ed influsso di stimoli diversi.
Arch.Sci.Biol., 1962, 46 , 347-355.

318- MANTEGAZZA P. et PICCINI F.- Contributo allo studio del meccanismo della secrezione acide gastrica da istamina nel ratto.
Boll.Soc.Ital.Biol.Sper., 1963, 39 , 479-482.

319- MARTIN DU PAN R. - La modification de la resorption de l'alcool après ingestion d'huile de paraffine ou d'huile d'olive.
Rev.Med.Suisse Rom., 1941, 61 , 537-549.

320- MARTIN F. et LAMBERT R. - Physiologie de la sécrétion gastrique.
Acta Gastro-Enterol. Belgica, 1965, 28 , 477-530.

321- MARTIN M.S., LAMBERT R., MARTIN F. et ANDRE C. - Effet protecteur de la vitamine A sur l'ulcère de contrainte du rat.
Compt. Rend. Soc. Biol., 1967, 161 , 2527-2530.

322- MARTIN M.S., LAMBERT R. et MARTIN F. - Les relations hypothalamo-gastriques (Revue générale) .
Path. Biol., 1968, 16, 1099-1113.

323- MASUDA H., OHARA M. et KATSURA S. - Studies on the temperature of the gastrointestinal tract.
Tohoku J. Exptl. Med., 1953, 57 , 129-143.

324- MATSUO Y. - Biossay of gastrin.
Igaku No Ayumi, 1967, 63, 235-239.

325- MENDELOFF A.I. - Effect of intravenous infusions of ethanol upon estimated hepatic blood flow in man.
J. Clin. Invest., 1954, 33, 1298-1302.

326- MENGUY R. - Effects of restraint stress on gastric secretion in the rat.
Amer. J. Dig. Dis., 1960, 5 , 911-916.

327- MENGUY R. - Effect of histamine on gastric blood flow.
Amer. J. Digest. Diseases, 1962, 7 , 383-393.

328- MENGUY R. - Gastric mucus and gastric mucous barrier. A review
Amer. J. Surg., 1969, 117 , 806-812.

329- MEZEY E., CHERRICK G.R. et HOLT P.R. - Biliary excretion of alcohol dehydrogenase.
J. Lab. Clin. Med., 1968, 71 , 798-806.

330- MIGNON M., LEWIN M., SEMB L.S., BONFILS S. et NYHUS L.M. - Effets d'un extrait gastrinique antral sur la sécrétion acide et peptique du rat.
Rev. Fr. Et Clin. Biol., 1968, 6 , 575-583.

331- MIGNON M., SEMB L.S., FLETCHER T.L., HARKINS H.N. et NYHUS L.M. - Effects of gastrin on acid and pepsin secretion in pylorus ligated rats.
Scand. J. Gastroenterol., 1969, 4 , 33-37.

332- MIRONE L. - Effect of prolonged EtOH intake on body weight, liver weight and liver nitrogen, glycogen, ADH, NAD and NADH of mice.
Life Sci., 1965, 4 , 1195-1199.

333- MIRSKY I.A., BLOCK S., OSCHER S. et BROH-KAHN R.H. - Uropepsin excretion by man-I-The source, properties and assay of uropepsin.
J. Clin. Investigation, 1948, 27 , 818-833.

334- MISTILIS S.P. et BIRCHALL A. - Induction of alcohol dehydrogenase in the rat.
Nature, 1969, 223 , (5202), 199-200.

335- MITCHELL R.G. - The urinary excretion of subcutaneously injected histamine.
Brit. J. Pharmacol., 1956, 11 , 462

336- MITJAVILA S. et DERACHE R - Effet du tanin sur la stéatogénèse hépatique de l'éthanol chez le rat.
Fd. Cosmet. Toxicol., 1968, 6 , 39-44.

337- MIYAGI S., SHOEMAKER C.P. et POWERS S.R. - Carbon dioxide metabolism in the intact mammalian stomach.
Surgery, 1966, 59 , 1083-1091.

338- MIYANA K. - Transamination of histamine to phenylpyruvate and p-hydroxy-phenylpyruvate.
Nichidai Igaku Zasshi, 1960, 19 , 3715-3725.

339- MOODY F.G. et DURBIN R.P. - Effects of glycine and other installates on the concentration of gastric acid.
Amer. J. Physiol., 1965, 209 , 122-126.

340- MOODY F.G. - Oxygen consumption during thiocyanate inhibition of gastric acid secretion in dogs.
Amer.J. Physiol., 1968, 215 , 127-131.

341- MOORE E.W., EDWARDS T.L. et PATTERSON J.F.- Mathematical method for estimation of maximal gastric secretory capacity.
Gastroenterology, 1966, 51 , 473-480.

342- MOORE T.C., NORMELL L. et BEN EISEMAN - Histamine metabolism in the isolated perfused canine liver.
Surg.Forum, 1963, 14 , 78-79.

343- MOORE J.W., ULBRICT W. et TAKATA M.- Effect of ethanol on the sodium and potassium conductances of the Squid Axon membrane.
J. gen.Physiol., 1964, 48 , 279-295.

344- MOSER K., PAPENBERG J. et von WARTBURG J.P.- Heterogenität und organverteilung der alkoldehydrogenase bei verschieden spezies.
Enzym. Biol.Clin., 1968, 9 , 447-458.

345- de MURO P. , ROWINSKI P., CALARESU I. et FRAGNI A.- The importance of potassium in the mechanism of gastric hydrochloric acid secretion.
Acta Med.Scand., 1961, 170 , 403 410.

346- MUTT V. et JORPES J.E.- Contemporary developments in the biochemistry of the gastro-intestinal hormones.
Recent Progr. Hormone Res., 1967, 23 , 483-503.

347- NAKAJIMA T. et SANO I.- Metabolite of histamine : 4 (5) -imidazol-2-éthanol.
Biochim.Biophys.Acta, 1964, 82 , 260-265.

348- NELEMANS F.A. - The influence of various substances on the acethylcholine contracture on the frog's isolated abdominal muscle.
Acta Physiol.Pharmarcol.Neerl., 1962, 11 , 76-82.

349- NEWMAN H.W. et MEHRTENS H.G. - Effects of intravenous injection of ethyl alcohol on gastric secretion in man.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1932, 30 , 145-148.

350- NEWMAN H.W. et CARD J. - The nature of tolerance to ethyl alcohol.
J.New Ment.Dis., 1937, 86, 428-440.

351- NEYMARK M. et WIDMARK E.M.P.- The influence of glycocoll on the absorption and metabolism of ethyl alcohol.
Klin.Fysiogr.Sällsk.Lund.Förh, 1942, 12 , 3-13.

352- NICAISE A.M. - L'émission en fluorescence ; fondement moderne de l'exploration du métabolisme des amino-acides.
Prod. et Probl.Pharmaceutiques, 1969, 24 , 621-629.

353- NICLOUX M. - Permeabilité totale envers l'alcool de tous les tissus, peau comprise, chez la grenouille intacte.
Compt. Rend.Soc.Biol., 1937, 125 , 453-458.

354- NORDGREN B. - The rate of secretion and electrolytes content of normal gastric juice.
Acta Physiol.Scand., 1963, 58 (supp.202) 1-88.

355- NORN S. - Chemical determination of histamine in tissues and mast cells.
Acta Pharmacol.Toxicol., 1965, 22 , 115-125.

356- NORTHROP J.H.- The presence of a gelatin-liquifying enzyme in crude pepsin preparations.
J.Gen.Physiol., 1931, 15 , 29-43.

357-NOWINSKI W.W. - Problem of hydrochloric acid - Formation in the stomach.
Amer. J. Surg., 1969, 117, 768-770.

358- NYHUS L.M., CHAPMAN N.D., de VITO R.V. et HARKINS H.N. - The control of gastrin release-An experimental study illustrating a new concept.
Gastroenterology, 1960, 39 , 582-589.

359- OATES J.A., MARSH E. et SJOERDSMA A. - Studies on histamine in human urine using a fluorometric method of assay.
Clin.Chim.Acta, 1962, 7 , 488-497.

360- ODELL W.D., CHARTERS A.C., DAVIDSON W.D. et THOMPSON J.C.- Radioimmunoassay for human gastric unconjugated gastrin as an antigen.
J. Clin. Endocrinol.Metab., 1968, 28, 1840-1842.

361-ORBELI L.A. - De l'activité des glandes à pepsine avant et après la section des nerfs pneumogastriques.
Arch.Sci.Biol., 1906, 12 , 71-103.

362- ORME-JOHNSON W.H. et ZIEGLER D.M. - Alcohol mixed function oxidase activity of mammalian microsomes.
Biochem.Biophys.Res.Commun, 1965, 21, 78-82.

363- PADYKULA H.A., STRAUSS E.W., LADMAN A.J. et GARDNER F.H.A. - A morphological and histochemical analysis of the human jejunal epithelium in non-tropical sprue.
Gastroenterology, 1961, 40 , 735-765.

364- PARROT J.L. et VASSEUR B.- Etude critique du rôle physiologique de l'histamine dans la stimulation de la sécrétion gastrique.
J. Physiol.(Paris), 1960, 52 , 185-186.

365- PASSARO E.P. et GROSSMAN M.I. - Effect of vagal innervation on acid and pepsin response to histamine and gastrin.
Amer. J. Physiol., 1964, 206 , 1068-1076.

366- PAUL J. - Cells and Tissue Culture.
Livingstone ed, Londres, 1961, 312 pages.

367- PAULY H. et LUDWIG E. - Glucosamine as a former of heterocyclic compounds.
Z. Physiol.Chem., 1922, 121 , 170-172.

368- PAWAN G.L.S. et HOULT W.H. - The determination of total body water in man by ethanol dilution.
Biochem. J., 1963, 87 , 6-7.

369- PAYNE R.A., COX A.G., SPENCER J. et CHENG F.C.Y. - Effect of vagatomy on gastric acid secretion stimulated by pentagastrin and histamine.
Brit.Med.J., 1967, 4 , 456-457.

370- PELLETIER G., HALPERN B.N. et GARBARG M. - Corrélation entre la phase digestive et les taux d'histidine décarboxylase dans la muqueuse gastrique.
Compt. Rend.Soc.Biol., 1965, 159, 624-628.

371- PERRIN P. - L'action deshydratante de l'alcool joue-t-elle un rôle dans la pathogénie de l'alcoolisme ?
Rev. Alcoolisme, 1967, 13, 67-74.

372- PETROVITCH A. et BOKANOWA E.- L'action de l'alcool sur le chimisme gastrique.
Compt.Rend.Soc.Biol., 1929, 102, 633-634.

373- PEVSNER L. et GROSSMAN M.I. - The mechanism of vagal stimulation of gastric acid secretion.
Gastroenterology, 1955, 28, 493-499.

374- PIPER D.W., FENTON B.H., GRIFFITH E.M., BRODERICK F.L. et BEESTON D.- Enzyme systems in gastric mucosa.
Amer. J. Dig.Dis., 1965, 10, 596-601.

375- PLUECKHAHN V.D. et BALLARD B. - Diffusion of stomach alcohol and heart blood alcohol concentration at autopsy.
J. Forensic Sci., 1967, 12, 463-470.

376- QUAGLIA F. et BELLOMO A.- Azione sul chimismo gastrico dell alcool etilico introdotto par via endovenosa.
Arch.Ital.Mal.App.Diges., 1940, 9 , 310-322.

377- RADWAN A.G. et WEST G.B. - The effect of amino guanidine, histamine, chlorpromazine and antibacterial agents on histidine decarboxylase in the stomach of the rat. Brit.J. Pharmacol.Chemother., 1968, 33, 177-183.

378- RASANEN T. - Mitotic activity in rat epidermis and gastric mucosa after gluco-and mineralocorticoid administration. Growth, 1962, 26 , 1-14.

379- RASANEN T. - Fluctuations in the mitotic frequency of the glandular stomach and intestine of rat under the influence of ACTH, glucocorticoids, stress and heparin. Acta Physiol.Scand., 1963, 58, 201-210.

380- RASANEN T. - Histidine-induced secretion in the pyloric ligated rat stomach. Acta Physiol.Scand., 1966, 66, 481-483.

381- REHM W.S. - Electrical resistance of resting and secreting stomach. Amer.J. Physiol., 1953, 172, 689-699.

382- REY de VINAS J.L. et LUCAS GALLEGO J.- Influencia de las capsulas suprarrenales en la eliminación de histamina por el riñon en ratas machos. Rev. Espan. Fisiol., 1966, 22 , 141-146.

383- RICH J.T. et WILSON C.W.M. - Alcohol preference in the rat. Quart. J. Stud. Alcohol, 1966 , 27 , 447-458.

384- RICHTER C.P. - Alcohol as food. Quart. J. Stud. Alcohol, 1941 , 1 , 650-662.

385- RIGGS B.C. et STADIE W.C. - A photoelectric method for the determination of peptic activity in gastric juice. J. Biol. Chem., 1943, 150 , 463-470.

386- RINKEL M.et MYERSON A. - Pharmacological studies in experimental alcoholism-I-The effect on sympathomimetic substances on the blood alcohol level in man. J. Pharmacol.Exp.Ther., 1941, 71, 75-86.

387- RISLEY E.H., RAYMOND W.B. et BARNES R.H. - The use of the Shay rat in studying antiulcer substances. Amer.J. Physiol., 1947, 150 , 754-759.

388- ROBERT A., BAYER R.B. et NEZAMIS J.E. - Gastric mucus content during development of ulcers in fasting rats. Gastroenterology, 1963, 45 , 740-751.

389- ROBERT A., PHILLIPS J.P. et NEZAMIS J.E. - Gastric secretion and ulcer formation after hypophysectomy and administration of somatotropic hormone. Amer.J. Digest.Diseases, 1966, 11 , 546-552.

390- ROBERTS K.E. - Mechanism of deshydration following alcohol ingestin. Arch.Int.Med., 1963, 112 , 154-157.

391- ROSENFELD G. - Potentiation of the narcotic action and acute toxicity of alcohol by primary aromatic monoamines. Quart. J. Stud. Alcohol, 21 , 584-586.

392- ROSENOER V.M. et SCHILD H.O. - The assay of urogastrone. J. Physiol. (London), 1962, 162, 155-162.

393- ROSENTHAL S.M. et TABOR H. - Improved colorimetric method for estimation of histamine. J. Pharmacol.Exp.Ther., 1948, 92 , 425-431.

394- ROY S. - Experimental studies of gastric secretion in albino rats. Calcutta Med.J., 1965, 62 , 75-81.

395- ROY S. - Hypoglycaemic gastric ulcers in rats. Calcutta Med. J., 1965, 62 , 274-283.

396- RUDICK J. , SEMB L.S., GUNTHEROTH W.G., MULLINS G.L., HARKINS L.M. et NYHUS L.M. - Gastric blood flow and acid secretion under various physiological and pharmacological stimuli. Surgery, 1965, 58 , 47-57.

397- RUDICK J., GUNTHEROTH W.G. et NYHUS M. - Recent observations on gastric blood flow and acid secretion.
Dans " Gastric secretion, mechanism and control " . Proceedings of Symposium, édité par SHNITKA T.K., GILBERT J.A.L. et HARRISON R.C.. Pergamon Press, 1967, 53-69.

398- SACHDEV K.S., RANA P.K., DAVE K.C. et JOSEPH A.D. - A study of the mechanism of the potentiation by aliphatic alcohols of the acetyl choline response on the frog's rectus abdominis.
Arch.Int.Pharmacodyn., 1964, 152 , 408-415.

399- SACHS G., COLLIER R.H., SHOEMAKER R.L. et HIRSCHOWITZ B.I.- The energy source for gastric H^+ secretion.
Biochim.Biophys. Acta, 1968, 162 , 210-219.

400- de SAINT BLANQUAT G. et DERACHE R. - Activité de l'octanoico-oxydase dans le foie de rat après intoxication alcoolique à long terme.
Compt. Rend.Soc.Biol., 1965, 159 , 2060-2063.

401- SAKSENA J.S. et NARAYANA S. - Urinary chloride as an index of gastric acidity.
Indian J. Physiol.Applied.Sci., 1963, 16 , 109-114.

402- SAWREY W.L. et WEISZ J.D.- An experimental method of producing gastric ulcers.
J. Comp.Physiol.Psychol., 1956, 49 , 269-270.

403- SCHAPIRO H. , CUMMINS A.J. et LUCKEY J. - Dissociation between gastric secretion and motility.
Am.J. Dig.Dis., 1965, 10 , 751-757.

404- SCHAPIRO H. , WRUBLE L.D., ESTES J.W. et BRITT L.G. - Pancreatic secretion stimulated by the action of alcohol on the gastric antrum.
Amer. J. Dig. Dis., 1968, 13 , 536-539.

405- SCHAPIRO H. et WRUBLE L.D. - Effects of ethanol on the digestive tract and related organs
Dans " International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics," 1970, Section 20, volume I, 237-260, Pergamon Press.

406- SCHAYER R.W. et IVY A.C. - Evidence that histamine is a gastric secretory hormone in the rat.
Amer.J. Physiol., 1957, 189 , 369-372.

407- SCHAYER R.W. - Catabolism of physiological quantities of histamine in vivo.
Physiol. Rev., 1959, 39 , 116-126.

408- SCHENKER V.J. - Effects of ethanol on the endocrines.
Dans " International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics", 1970, Section 20, volume I, 261-274 , Pergamon Press.

409- SCHLESINGER K., BENNETT E.L., HEBERT M. et Mc CLEARN G.E. - Effects of alcohol consumption on the activity of liver enzymes in C 57 BL/C r g l mice.
Nature, 1966, 209 , 488-489.

410- SCHMIDT E. et SCHMIDT F.W. - Enzyme-Muster Menschlicher gewebe.
Klin.Wschr., 1960, 38 , 957-962.

411- SCHMIDT K.M. et KLOPFER F.D. - Ethanol and stomach ulcers- Absence of influence in the albino rat.
Quart.J. Stud. Alcohol, 1968, 29 , 558-565.

412- SCHOENFIELD L.J., SIPLET M. et KOMAROV S.A. - Effect of gastrin preparation on gastric secretion in chronic fistula rats.
Amer. J. Dig.Dis., 1966, 11 , 113-121.

413- SCHWARTZ D. - Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes.
Editions médicales Flammarion, Paris, 1963, 296 pages.

414- SCHWARTZ J.C., RONNBERG A.L., COHEN Y. et VALETTE G.- The effect of atropine on histidine decarboxylase of the stomach of the rat.
Pharmacol. Res.Com. 1969, 1 , 89-93.

415- SCHWARTZ J.C., RONNBERG A.L., COHEN Y. et VALETTE G. - Histamine formation in rat stomach. Study of regulation mechanisms.
Eur.J.Pharmacol., 1969, 5, 272-278.

416- SCHWARZMANN V.- Effets comparés sur l'alcool déshydrogénase hépatique de l'intoxication alcoolique chez l'Homme et chez le Rat.
Tijdschrift voor gastroenterologie, 1964, 7 B , 282-287.

417- SCOTT C.C., SCOTT W.W. et LUCKHARDT A.B. - The effect of alcohol on the hunger sense.
Amer. J. Physiol., 1938, 123 , 248-255.

418- SEIJFFERS M., BIRNBAUM D. et GROEN J.J. - Effect of mercury salts on gastric secretion in rats.
Gastroenterologia, 1963, 99 , 105-112.

419- SERNKA T.J. et HOGBEN C.A.M. - Active ion transport by isolated gastric mucosa of rat and guinea pig.
Amer. J. Physiol. , 1969, 217 , 1419-1424.

420- SEWING K. F. - Effect of gastric secretagogues on gastric mucosal histamine and histidine decarboxylase activity in rats.
Life Sci., 1969, 8 , 783-789.

421- SHAPIRA D. - Vagal influences in gastric secretion.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1962, 99 , 58-66.

422- SHAY H., KOMAROV S.A., FELS S., MERANZE D., GRUENSTEIN M. et SIPLET H.- A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat.
Gastroenterology, 1945, 5, 43-61.

423- SHAY H., SUN D.C.H. et GRUENSTEIN M. - A quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat.
Gastroenterology, 1954 , 26 , 906-913.

424- SHOEMAKER R.L., SACHS G. et HIRSCHOWITZ B.I. - Secretion by guinea pig gastric mucosa in vitro.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1966, 123 , 824-827.

425- SHORE P.A., BURKHALTER A. et COHN V.H. - A method for the fluorometric assay of histamine in tissues.
J. Pharmac. Exp.Therap., 1959, 127 , 182-186.

426- SHORE P.A. - Release of histamine from stomach by vagus stimulating drugs : association with gastric acid secretion.
Féder.Proc., 1965, 24 , 1322-1325.

427- SJAASTAD O.- Urinary excretion of histamine in patients with various muscular disorders.
Acta Med.Scand. , 1966, 179 , 269-274.

428- SKORYNA S.C. et WEBSTER D.R. - A method of collection of pure gastric secretion in rats.
Surg. Forum, 1959, 10 , 193-196.

429- SMITH G.M., LAWRENCE A.J., COLIN-JONES D.G., et SCHILD H.O.- Assay of gastrin using the perfused rat stomach.
Brit.J. Pharmacol., 1970, 38 , 206-213.

430- SMYTHE C.M., HEINEMANN H.O. et BRADLEY S.E.- Estimated hepatic blood flow in the dog. Effect of ethyl alcohol on it, renal blood flow, cardiac output and arterial pressure.
Amer. J. Physiol., 1953, 172, 734- 742.

431- SNYDER S.H. et EPPS L. - Histidine decarboxylase in rat stomach : mechanism of its activation by gastrin. (Abstracts of 51th Annual Meeting).
Federat. Proc., 1967, 26 , 786.

432- SOLCIA E., VASSALO G. et CAPELLA C. - Studies on G cells of the pyloric mucosa, the probable site of gastrin secretion.
Gut, 1969, 10 , 379-388.

433- SPENCER R.P. , BRODY K.R. et LUTTERS B.M. - Some effects of ethanol on the gastrointestinal tract.
Amer. J. Dig. Dis., 1964, 9 , 599-604.

434- STEINITZ H., ALALUF D. et PINTHUS P. - Tubeless determination of gastric acidity.
Dapim Refuiim, 1958, 17 , 78-84.

435- STENING G.F. et GROSSMAN M.I. - Gastrin related peptides as stimulants of pancreatic and gastric secretion.
Amer.J. Physiol., 1969, 217 , 262-266.

436- STEVENS C.E. et LEBLOND C.P. - Renewal of mucous cells in the gastric mucosa of the rat.
Anat.Rec., 1953, 115 , 231-245.

437- STUBRIN M.I., DYCE B., BREM T., TECIMER L.B. et HAVERBAK B.J. - The effect of gastric secretagogues on gastric tissue histamine.
Amer. J. Dig. Dis., 1965 , 10 , 901-908.

438- SVENSSON S.E. et WETTERQVIST H. - Nicotine induced alterations in histamine metabolism in the rat.
Brit. J. Pharmacol. Chemother, 1968, 33 , 570-575.

439- SVENSSON S. E. - Gastric secretion in unanesthetized Pavlov pouch rats.
J. Physiol. (London), 1969, 200 , 116 P - 118 P.

440- TANG J. - Competitive inhibition of pepsin by aliphatic alcohols.
J. Biol.Chem., 1965, 240 , 3810-3815.

441- TAUBER S.D. - Characterization of a pure gastrin.
Dans " Gastrin " ed. par GROSSMAN M.I., Los Angeles, University of California Press, 1966, 27-48.

442- TEIR H. et RASANEN T. - A study of mitotic rate in renewal zones of non-diseased portions of gastric mucosa in cases of peptic ulcer and gastric cancer, with observations on differentiation and so called " intestinalization " of gastric mucosa.
J. Nat.Cancer Inst., 1961, 27 , 949-971.

443- TELFORD J.M. et WEST G.B. - The formation of histamine in the rat.
J. Pharm.Pharmacol., 1961, 13 , 75-82.

444- TENNENT D.M. - Factors influencing the effects of alcohol on blood sugar and liver glycogen.
Quart.J. Stud.Alcohol., 1941, 2 , 263-270.

445- TENNENT D.M. - The influence of alcohol on the emptying time of the stomach and the absorption of glucose.
Quart.J. Stud.Alcohol, 1941, 2 , 271-276.

446- THOMPSON J.C., DAVIDSON W.D., PATTON J.J. et MILLER J.H.- Histamine stimulation of gastric pepsin secretion in the dog.
Arch. Surg. 1968, 97 , 805-808.

447- THOMPSON J.C. - Gastrin and gastric secretion.
Ann. Rev.Med., 1969, 20 , 291-314.

448- THOMPSON J.H. - Gastric secretory response of Shay rats to I.C.I. 50.123.
Experientia, 1969, 25 , 155-156.

449- THORNTON G.H.M. et CLIFTON J.A. - Estimation of hydrochloric acid secretion in rats by a test meal technique.
Amer.J. Physiol., 1959, 197 , 263-268.

450- TOOVEY E.W., HELLER L. et WEBSTER D.R. - A method of transplanting gastric mucosa to the anterior abdominal wall of the rat for the local application of carcinogen.
Cancer Res., 1951, 11 , 912-915.

451- TREMOLIERES J. et LOWY R. - Données actuelles sur la toxicité de l'alcool.
Actual.Pharmac., 1964, 17 , 191-211.

452- TRUDEAU W.L. et Mc GUIGAN J.E. - Serum gastrin levels in patients with peptic ulcer disease.
Gastroenterology, 1970, 59 , 6-12.

453- TURNER M.D., TUXILL J.L., MILLER L.L. et SEGAL H.L. - An ultra micro method for the measurement of pepsin.
Anal. Biochem., 1966, 16 , 487-499.

454- TURNER M.D., TUXILL J.L., MILLER L.L. et SEGAL H.L. - Measurement of pepsin I (gastricsin) in human gastric juice.
Gastroenterology, 1967, 53 , 905-911.

455- UVNAS B. et EMAS S. - A method for biologic assay of gastrin.
Gastroenterology, 1961, 40 , 644-648.

456- VAGNE M., MARTIN F. et LAMBERT R. - Dosage de la pepsine dans la sécrétion gastrique humaine. Influence de différents facteurs sur la protéolyse peptique.
Rev. Fr. Etudes Clin. Biol., 1967, 12 , 559-565.

457- VAGNE M. - Les hormones gastrointestinales.
Path. Biol., 1970, 18 , 887-904.

458- VALBERG L.S. et WITTS L.J. - The histamine test meal in the rat.
Gut. , 1961, 2 , 32-36.

459- VALENZUELA J.E., PETERMANN M. et UGARTE G. - Pancreatic secretion stimulated by a gastrinlike pentapeptide.
Amer. J. Dig. Dis., 1968, 13 , 767-774.

460- VASSEUR B. et PARROT J.L. - Dosage biologique de la gastrine sur le rat.
J. Physiol. (Paris) , 1964 , 56 , 460.

461- VATIER J., BONFILS S., BADER J.P., DUBRASQUET M. et LAUDAT P.- Isolement chromatographique (Sephadex) du " facteur P.S.U." (pouvoir secrétagogue gastriques des urines), dans les urines de sujets atteints du syndrome Zollinger-Ellison.
Path. Biol., 1966, 14, 358-361.

462- VATIER J. , CHERET A.M. et BONFILS S.- Le dosage automatique de l'activité protéolytique du suc gastrique.
Biol. Gastroent., 1968, 1 , 15-29.

463- VILLAREAL R. - Pepsin secretion and synthesis in vitro.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, 83 , 817-819.

464- VILLEGAS L. - Cellular location of the electrical potential difference in frog gastric mucosa.
Biochim. Biophys. Acta, 1962, 64 , 359-367.

465- VOCAC J.A. et ALPHIN R.S. - Effects and mechanism of action of a lignosulphonate on experimental gastric ulceration in rats.
Eur. J. Pharmacol., 1968, 4 , 99-102.

466- WALLGREN H. - Relative intoxicating effects on rats of ethyl, propyl and butyl alcohols.
Acta Pharmacol., 1960, 16 , 217-222.

467- WALLGREN H. - Effects of acetylcholine analogues and ethanol on the respiration of brain cortex tissue in vitro.
Biochem. Pharmacol., 1961, 6 , 195-204.

468- von WARTBURG J.P., BERLI W. et AEBI H. - Der Eintluss langdauernder Athyl-alkohol-Belastung auf die Katecholaminausscheidung im Harn der Ratte.
Helv. Med. Acta, 1961, 28, 89-98.

469- von WARTBURG J.P. - Distribucion de la deshidrogenasa alcoholica en tejidos de diferentes especies.
Arch. Biol. Med. Exp., 1969, suppl. 3, 36-42.

470- WARTER J., SCHWARTZ J., SIMLER M. et VILLANUEVA A.-Uropepsine-Valeurs de sa détermination dans les maladies gastriques et endocriniennes.
Strasbourg Med., 1959, 10, 61-69.

471- WEISE R., SCHAPIRO H. et WOODWARD E.R.- Effect of parenteral alcohol on gastric secretion.
Surg. Forum, 1961, 12 , 281-282.

472- WEISS A. et SCIALES W.J. - The effect of tolbutamide on human basal gastric secretion.
Ann.Internal Med., 1961, 55 , 406-415.

473- WEPIERRE J. et NOUVEL G. - Absorption percutanée de l'éthanol in vivo chez le Chien et la Souris.
Bull.Trav.Soc.Pharm. Lyon, 1967, 11, 139-143.

474- WEST P.M., ELLIS F.W. et SCOTT B.L. - A simplified method for determining the excretion rate of uropepsin.
J. Lab.Clin.Med., 1952, 39 , 159-162.

475- WIDMARK E.M.P. - Eine mikromethode sur Bestimmung von Athylalkohol in Blut.
Biochem. Z., 1922 , 131 , 473-484.

476- WILKEN B.J., TURNER M.D., HUNT D.G. et HARDY J.D. - Factors affecting gastric blood flow in the unanesthetized rat.
Surg. Forum , 1968, 19 , 284-286.

477- WILKEN B. J. , HUNT D.G., DOWE C.F., BILLUPS W.A., TURNER M.D. et HARDY J.D. Sensitivity, range and reliability of a method for the bioassay of gastrin.
J.Surg.Res., 1969, 9 , 551-557.

478- WILLIAMS A.W. - Effects of alcohol on gastric mucosa.
Brit.Med.J. , 1956, 1 , 256-259.

479- WILLOX G.L., MICHALYSHYN H. et KOWALEWSKI K.- Gastric blood flow and temperature after histamine in dogs.
Arch.Intern. Physiol., 1961, 69 , 668-673.

480- WONG J.T.F. et WILLIAMS G.R. - The mechanism of liver alcohol dehydrogenase.
Arch. Biochem. Biophys., 1968, 124 , 344-348.

481- WOODWARD E.R., SLOTTEN D.S. et TILLMANS V.C. - Mechanism of alcholic stimulation of gastric secretion.
Proc. Soc.Exp.Biol., 1955, 89 , 428-431.

482- WOODWARD E.R., STEVENS G.A. et ROBERTSON C.- The role of the antrum in surgery for duodenal ulcer.
Arch.Surg., 1956, 72 , 1003-1008.

483- WOODWARD E.R., ROBERTSON C., RUTTENBERG H. et SCHAPIRO H. - Alcohol as a gastric secretory stimulant.
Gastroenterology, 1957, 32 , 727-737.

484- WOODWARD E.R., PARK C.L. , SCHAPIRO H. et DRAGSTEDT L.R. - Significance of Meissner's plexus in the gastrin mechanism.
Arch. Surg., 1963., 87, 512-518.

485- WRIGHT L.T. - The effect of alcohol in the rate of discharge from the stomach.
Boston Med. Surg.J., 1916, 175 , 727-729.

486- YALOW R.S. et BERSON S.A. - Size and charge distinctions between endogenous human plasma gastrin in peripheral blood and heptadecapeptide gastrins.
Gastroenterology, 1970, 58 , 609-615.

487- YALOW R.S. et BERSON S.A. - Radioimmunoassay of gastrin.
Gastroenterology, , 1970, 58 , 1-14.

488- ZAIDI S.H., SINGH G.B. et BAJPAI R.P. - Mucous barrier in experimental phenylbutazone peptic ulceration.
Ind.Jour.Med.Res., 1961, 49 , 16-22.

489- ZAMPI G. et SMORLESI L.- Cellule mucipare del tubo gastro enterico e rigenerazione gastrica nel blocco farmacodinamico sperimentale del sistema nervoso autonomo.
Arch. Vecchi, 1956, 24 , 235-262.

490 - Mc GUIGAN J.E.- Gastric mucosal intracellular localization of gastrin by immunofluorescence
Gastroenterology, 1968, 55, 315-317.

INDEX DES FIGURES

Pages

1- Schéma de la sécrétion acide de l'estomac 9

2- Préparation technique d'un estomac retourné de rat 26

3- Courbe étalon du dosage de pepsine 33

4- Droite de régression obtenue à partir des résultats de l'estomac de Shay (par heure et par 100 g de poids corporel) 38

5- Droite de régression obtenue à partir des résultats de l'estomac de Shay (par heure et par 100 g de poids corporel). 39

6- Droite de régression obtenue à partir des résultats d'une heure de sécrétion de l'estomac perfusé. 42

7- Droite de régression obtenue à partir des résultats de la sécrétion de l'estomac perfusé (par heure et par 100 g de poids corporel). 43

8- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion acide de l'estomac perfusé de rats normaux .. 58

9- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel)sur la sécrétion pepsique de l'estomac perfusé de rats normaux .. 60

10- Evolution du pH du milieu d'incubation de l'estomac isolé, au cours du temps en présence d'éthanol à différentes concentrations..... 78

11- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion acide de l'estomac perfusé de rats vagotomisés.. 84

12- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la sécrétion pepsique de l'estomac perfusé de rats vagotomisés.. 85

13- Effet d'une injection intraveineuse d'histamine sur la sécrétion acide et pepsique de l'estomac perfusé de rats normaux. 99

14- Effet d'une injection intraveineuse de peptavlon sur la sécrétion acide et pepsique de l'estomac perfusé de rats normaux..... 100

15- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol sur la sécrétion acide et pepsique de l'estomac perfusé de rats normaux..... 101

16- Variations de différents constituants de la sécrétion de l'estomac isolé de rats sous l'effet de l'histamine, de la gastrine ou de l'éthanol contenus dans le milieu d'incubation..... 102

17- Effet de l'injection intraveineuse de 0,5 ml d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol sur la sécrétion de l'estomac perfusé... 140

Pages

18- Quantités d'acide sécrété par l'estomac perfusé de rat, pendant l'heure consécutive à une stimulation par différentes doses de gastrine..... 144

19- Composés formés au cours du catabolisme de l'histamine 147

20- Effet de l'urine de rats traités à différentes doses d'éthanol, sur la sécrétion de l'estomac au pylore ligaturé..... 162

21- Evolution du poids des animaux témoins et des animaux traités à l'alcool (boisson à 10 g p.100 d'éthanol) pendant 25 semaines 186

22- Schéma des différentes actions de l'éthanol sur la cellule pariétale..... 210

INDEX DES TABLEAUX

Pages

1 - Doses léthales de l'éthanol pour quelques espèces animales 4

2 - Teneur en histamine gastrique chez quelques espèces animales et dose active de cette substance sur la sécrétion de l'estomac..... 12

3 - Etude sécrétoire de l'estomac isolé de rats en présence de différents milieux d'incubation..... 27

4 - Valeurs expérimentales observées et transformations logarithmiques effectuées pour l'établissement d'une courbe étalon du dosage de pepsine 32

5 - Sécrétions de l'estomac de SHAY pendant 4 heures et résultats rapportés soit à I h de sécrétion, soit à 1 h et à 100 g de poids de l'animal..... 37

6 - Différentes expressions des résultats de la sécrétion de l'estomac perfusé de rat (sécrétions par heure et sécrétions par heure pour 100 g de poids corporel)..... 41

7 - Différentes expressions des résultats de la sécrétion de l'estomac isolé de rat (sécrétions par heure et sécrétions par heure pour 100 g de poids corporel)..... 45

8 - Comparaison de trois méthodes d'étude de la sécrétion gastrique du rat..... 47

9 - Modifications de l'estomac et du suc gastrique après ligature du pylore chez des rats témoins et des rats traités à l'éthanol..... 54

10- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol, à la dose de 2 g par Kg de poids corporel, sur les sécrétions acide et pepsique de l'estomac perfusé de rats (résultats bruts)..... 57

11- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol, à la dose de 2 g par Kg de poids corporel, sur les sécrétions acide et pepsique de l'estomac perfusé de rats (résultats statistiques)..... 59

12- Corrélation entre l'acide et la pepsine de l'estomac perfusé, sécrétés dans l'heure immédiatement consécutive à l'injection d'une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre ou d'une solution d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel)..... 61

13- Evolution du pH du milieu d'incubation de l'estomac isolé, au cours du temps, en présence d'éthanol à différentes concentrations..... 73

14- Ethanol retrouvé après deux heures d'incubation de l'estomac isolé baignant dans un milieu alcoolique..... 80

15- Evolution du pH du milieu d'incubation de l'estomac isolé de rat préalablement traité " in vivo " soit par une dose de 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel, soit par une solution isocalorique de glucose..... 81

Pages

16- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rats vagotomisés (résultats bruts)..... 83

17- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol à la dose de 2 g par Kg de poids corporel sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rats vagotomisés (résultats statistiques)..... 84

18- Corrélation entre l'acide et la pepsine de l'estomac perfusé de rats vagotomisés, secrétés dans l'heure immédiatement consécutive à l'injection d'une solution de chlorure de sodium à 9 g par litre ou d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel)..... 86

19- Effet de l'injection intraveineuse d'histamine, de pentagastrine et d'éthanol sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rats normaux.... 98

20- Corrélation entre l'acide et la pepsine secrétés par l'estomac perfusé de rats normaux après stimulation par l'histamine, la pentagastrine et l'éthanol. 104

21- Variations secrétoires de l'estomac isolé en présence d'histamine, de gastrine et d'éthanol contenus dans le milieu d'incubation..... 111

22- Effet de l'administration orale d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la quantité d'histamine dans le tractus digestif..... 124

23- Effet de l'administration orale d'éthanol (2 g par Kg de poids corporel) sur la concentration d'histamine dans le tractus digestif..... 125

24- Effet d'une injection intraveineuse d'éthanol sur le taux d'histamine contenue dans le suc gastrique recueilli par la méthode de la ligature du pylore..... 127

25- Teneur en histamine dans les différentes zones de l'estomac de rat d'après quelques auteurs..... 129

26- Effet de l'injection intraveineuse de 1 ml d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol, sur la sécrétion de l'estomac de Shay..... 138

27- Effet de l'injection intraveineuse de 0,5 ml d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol, sur la sécrétion de l'estomac perfusé..... 139

28- Résultats statistiques de l'effet de l'injection d'extrait gastrique de rats témoins et de rats traités à l'éthanol sur la sécrétion de l'estomac perfusé 141

29- Effet de l'injection intraveineuse de gastrine sur la sécrétion de l'estomac perfusé de rat..... 143

30- Effet d'une intoxication aiguë d'éthanol sur l'excrétion urinaire de l'histamine 150

31- Composition des régimes liquides utilisés pour l'alimentation des rats dont on a mesuré l'histamine urinaire au cours du temps..... 153

32- Evolution de l'histaminurie au cours du traitement alcoolique chronique.. 154

33- Etude du pouvoir gastro sécrétagogue de l'urine de rats traités à différentes doses d'éthanol..... 160

34- Teneur en NAD^+ et $NADH_2$ 15 minutes après l'administration orale de 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel..... 173

Pages

35- Rapport NAD^+ / $NADH_2$ et somme des nucléotides NAD^+ et $NADH_2$ 15 minutes après l'administration orale de 2 g d'éthanol par Kg de poids corporel 173

36- Teneur en alcool deshydrogénase chez le rat, dans le foie, l'estomac et l'intestin grêle, 15 minutes et 72 heures après un traitement oral de 2 g par Kg d'éthanol. 179

37- Modifications de l'activité de l'alcool deshydrogénase hépatique après intoxication alcoolique à long terme chez le rat ou la souris d'après quelques auteurs 183

38- Quantités moyennes d'aliment et de boisson ingérées par rat et par jour au cours du traitement alcoolique à long terme 188

39- Consommation calorique et azotée des rats au cours du traitement alcoolique à long terme..... 189

40- Résultats expérimentaux de l'analyse des carcasses chez les rats au régime alcoolique pendant six mois..... 191

41- Composition centésimale de la carcasse de rats soumis au régime alcoolique pendant six mois..... 192

42- Teneur en alcool deshydrogénase dans le foie, l'estomac et l'intestin au cours de l'administration d'éthanol à long terme chez le rat..... 193

43- Sécrétion de l'estomac isolé de rats soumis au régime alcoolique pendant six mois. 195